UNIVERSITÉ DE PARIS

ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

SUR LA COMPOSITION CHIMIQUE DES BOUILLONS ALIMENTAIRES ET DES EXTRAITS DE VIANDE

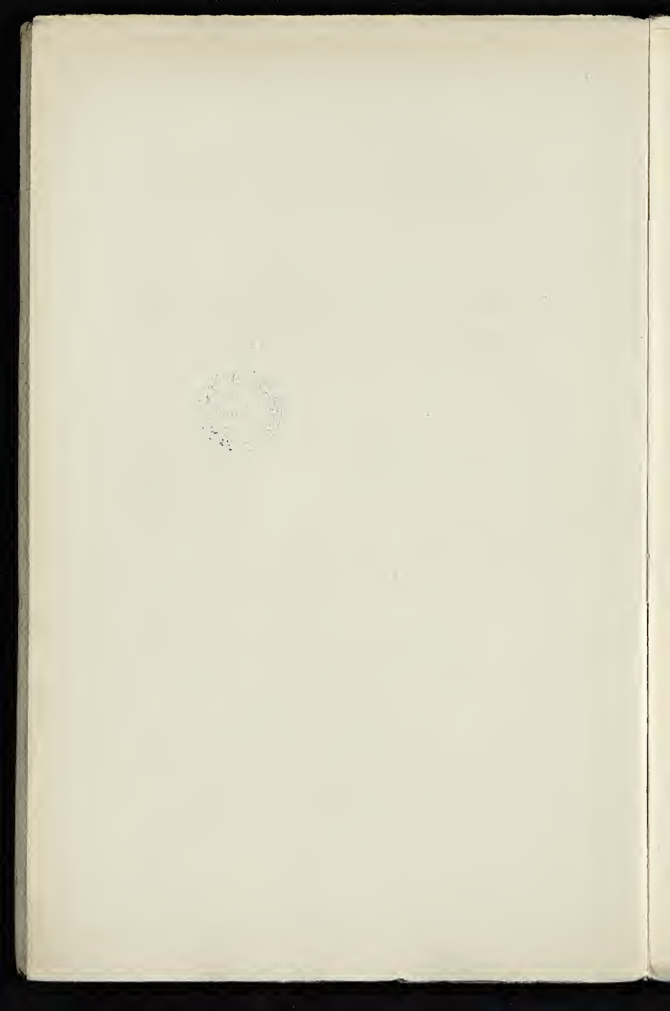
Mémoire déposé

par M. Turpaud

pour le

Prix Flon

Concours de 1910.



UNIVERSITÉ DE PARIS

ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

Année 1909-1910 *N° 12*

SUR LA COMPOSITION CHIMIQUE

DES

BOUILLONS ALIMENTAIRES
ET DES EXTRAITS DE VIANDE



THÈSE

Pour l'obtention du Diplôme de Docteur de l'Université de Paris (Pharmacie).

Présentée et soutenue le 21 Avril 1910

PAR

Ernest TURPAUD

Pharmacien de 1re classe,
Licencié ès Sciences,
Ancien interne des hôpitaux de Paris.

JURY { MM. GRIMBERT, Président.
LEBEAU, Professeur.
HÉRISSEY, Agrégé.

PARIS

IMPRIMERIE DE LA COUR D'APPEL

L. MARETHEUX, Directeur

1, RUE CASSETTE, 1

1910

PERSONNEL DE L'ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. GUIGNARD, Directeur, Membre de l'Institut, O. ✻, ❀ I.
BOUCHARDAT, Assesseur, O. ✻, ❀ I.
E. MUSSON, Secrétaire, ❀ I.

PROFESSEURS

MM. BOUCHARDAT, O. ✻, ❀ I.	Hydrologie et minéralogie.
GUIGNARD, Membre de l'Institut, O. ✻, ❀ I	Botanique générale.
VILLIERS, ✻, ❀ I	Chimie analytique.
BOURQUELOT, ✻, ❀ I.	Pharmacie galénique.
GAUTIER, ✻, ❀ I	Chimie minérale.
RADAIS, ❀ I.	Cryptogamie.
BÉHAL, ✻, ❀ I	Chimie organique.
PERROT, ✻, ❀ I.	Matière médicale.
COUTIÈRE, ❀ I	Zoologie.
BERTHELOT, ❀ I.	Physique.
GRIMBERT, ❀ I	Chimie biologique.
MOUREU, ✻, ❀ I.	Pharmacie chimique.
LEBEAU, ❀ I.	Toxicologie.

Professeurs honoraires : MM. MARCHAND, ❀ I.
JUNGFLEISCH, O. ✻, ❀ I.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. GUERBET, ❀ I.
DELÉPINE, ❀ I.
VALEUR, ❀ A.
BOUGAULT, ❀ A.
TASSILLY, ❀ I.

MM. GUÉRIN, ❀ I.
GUEGUEN, ❀ I.
LUTZ, ❀ I.
HÉRISSEY, ❀ I.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DEFACQZ, ❀ I.	Chimie générale.
COUSIN, ❀ I.	Chimie analytique.
SOUÈGES	Micrographie.
MOURLOT, ❀ I.	Physique.
BARTHELAT, ❀ I	Microbiologie.

Chef du Laboratoire des examens pratiques : M. JAVILLIER, ❀ A.
Bibliothécaire : M. DORVEAUX, ❀ I.

A MON PÈRE

A MA MÈRE

A M. le Professeur GRIMBERT

PROFESSEUR DE CHIMIE BIOLOGIQUE A L'ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE,
PHARMACIEN EN CHEF DES HOPITAUX DE PARIS,
DIRECTEUR DE LA PHARMACIE CENTRALE DES HOPITAUX

Hommage de reconnaissance,
de respectueux et de sincère attachement.

A M. le Docteur GUINOCHET

PHARMACIEN EN CHEF DE L'HOPITAL DE LA CHARITÉ

A M. le Docteur CAMPENON

PROFESSEUR AGRÉGÉ A LA FACULTÉ DE MÉDECINE
CHIRURGIEN HONORAIRE DES HOPITAUX
ANCIEN CHIRURGIEN DE L'HOPITAL DE LA CHARITÉ

A M. le Docteur ROGER

PROFESSEUR A LA FACULTÉ DE MÉDECINE
MÉDECIN DE L'HOPITAL DE LA CHARITÉ

INTRODUCTION



Nous nous sommes proposé dans ce travail d'étudier la composition chimique des bouillons et des extraits de viande dans le but d'établir, si possible, une méthode générale d'essai permettant de nous renseigner sur la valeur de ces préparations.

Les résultats obtenus par les nombreux auteurs qui se sont occupés jusqu'ici de la question sont le plus souvent contradictoires, ceux-ci ayant employé des procédés d'analyse et de dosage très différents et par cela même non comparables entre eux.

Il nous a paru intéressant de passer en revue ces diverses méthodes pour tâcher d'en dégager une marche plus rationnelle et susceptible d'être utilisée dans la pratique.

Aux Etats-Unis, où la fabrication des extraits de viande et produits similaires se fait sur une grande échelle, un comité chargé officiellement de leur étude a adopté une méthode générale pour l'analyse de ces produits. Il serait à souhaiter que cet exemple fût promptement suivi en France, où l'absence presque complète de méthodes de contrôle peut favoriser la fraude de ces préparations qui sont employées aussi bien dans la thérapeutique que dans l'art culinaire.

Notre travail est divisé en quatre parties :

La première est consacrée à l'historique de la question. Nous y passons en revue les principaux travaux qui ont paru sur les bouillons et extraits de viande, tant en France qu'à l'étranger, depuis ceux du pharmacien français Geoffroy jusqu'aux publications les plus récentes.

Dans une deuxième partie, nous décrivons une méthode d'essai qualitatif des bouillons et extraits de viande qui devra

nous guider plus tard dans l'analyse quantitative de ces préparations. Cet essai préliminaire, négligé par la plupart des chimistes, est de toute nécessité, si l'on veut se rendre un compte suffisamment exact de la composition des bouillons et extraits de viande, surtout au point de vue de leur valeur en éléments nutritifs, albumine, albumoses et peptones dont la présence a toujours été discutée.

Dans cet essai préliminaire, un chapitre spécial a été consacré aux matières réductrices, glucose, etc., qui peuvent s'y trouver d'une façon normale ou accidentelle. Cette étude a été complétée par quelques recherches sur les corps réducteurs qu'on rencontre dans la viande de bœuf.

Dans une troisième partie, nous donnons une marche d'analyse aussi exacte que possible des bouillons, extraits de viande ou autres préparations similaires.

Les échantillons dont nous nous sommes servi dans l'application des procédés de dosage adoptés ont été achetés sur la place de Paris ou mis à notre disposition dans les hôpitaux par l'administration de l'Assistance publique. Cette étude montrera d'une façon la plus claire la pauvreté des bouillons en principes nutritifs, contrairement à l'opinion de certains auteurs qui ont voulu y trouver les éléments les plus assimilables, albumoses ou peptones, qu'on y chercherait en vain.

Dans la quatrième partie enfin, nous réunissons les opinions émises par les physiologistes et les chimistes sur la valeur à attribuer à ces préparations au point de vue alimentaire.

Ce travail a été fait dans le laboratoire de M. le professeur Grimbert. Il est particulièrement agréable pour nous de remercier ici ce Maître des conseils et des encouragements qu'il nous a prodigués au cours de ces recherches. Qu'il veuille bien agréer ici l'hommage de notre profonde reconnaissance.

A M. le Dr Guinochet, pharmacien en chef de l'hôpital de la Charité, nous sommes heureux d'adresser l'hommage de notre vive gratitude pour l'intérêt qu'il nous a constamment témoigné durant nos années d'internat.

A M. le professeur agrégé Campenon, de la Faculté de méde-

cine, ex-chirurgien de l'hôpital de la Charité, nous adressons ici nos respectueux et sincères remerciements. Nous ne pouvons oublier les nombreuses marques de sympathie que nous a témoignées ce regretté Maître dans les hôpitaux, pendant les trois années passées dans son service.

J'ai toujours trouvé l'accueil le plus bienveillant auprès de M. le professeur Roger, de la Faculté de médecine, médecin de l'hôpital de la Charité. Qu'il veuille bien agréer l'hommage de notre respectueuse gratitude.

Je remercie enfin M. le professeur Lebeau et M. le professeur agrégé Hérissey, qui ont bien voulu accueillir ce travail.

SUR LA COMPOSITION CHIMIQUE

DES

BOUILLONS ALIMENTAIRES

ET DES EXTRAITS DE VIANDE

PREMIÈRE PARTIE

HISTORIQUE

Les préparations de viande étaient connues dès l'antiquité. HIPPOCRATE et son Ecole conseillent de commencer le repas par un aliment liquide ; de là l'usage des bouillons ordinaires recommandés par cet auteur et par AVICÈNE, plus tard, comme moyens diététiques[1]. Ce dernier avait déjà indiqué quelles espèces animales étaient préférables pour la préparation des bouillons et spécifié l'âge de ces animaux, leur état d'engraissement, et comment il fallait préparer les viandes pour avoir des bouillons concentrés.

Le célèbre médecin arabe[2] définit l'eau de viande (bouillon) : « l'eau extraite par décoction des viandes, broyées, hachées, jusqu'à épuisement complet, et dans laquelle la chair est laissée refroidir; cette colature, ajoute-t-il, est administrée en breuvage ».

On voit dans DIOSCORIDE et aussi dans PLINE que, de leur temps, on préparait pour l'usage de la médecine des bouillons de veau, de bélier, de chat, de fouine, de belette, de tête de chèvre, d'os

1. H. BREMER. *Zeitschr. f. Untersuchung. d. Narh.-Genussmittel*, 1899, 2:793; *Chem. Ztg.*, 1900, 24:838.
2. AVICENAE. *Liber canonis de medicinis, cordialibus et cantica Basiteae*, 1556, p. 1051.

de porc concassés, des bouillons de poule, de chapon, de perdrix, de coucou et d'hirondelle.

Lémery, dans son *Traité des aliments*, signale le bouillon de veau comme ayant la propriété de modérer les pertes de sang des menstrues et d'arrêter les crachements de sang; ce bouillon figurait à côté du bouillon de vieux coq, qui était employé comme apéritif et détersif[1].

On voit par là que les préparations à base de viande furent employées dès l'antiquité, et spécialement en thérapeutique.

Le premier travail sur les bouillons et sur l'extrait de viande parut en 1730, dans le rapport de Geoffroy à l'Académie des Sciences de Paris[2]. « Les bouillons, dit Geoffroy dans ce rapport, font la nourriture ordinaire des malades, et, quand il faut leur mesurer les aliments, il est à propos de savoir quelle quantité d'aliments ces bouillons contiennent. » Geoffroy ajoute : « On a fait anciennement à l'Académie quantité d'analyses de différentes viandes, mais ces viandes étaient distillées au B.-M. De cette façon, il ne serait pas étonnant qu'elles nous donnassent des principes différents, en qualité ou en quantité de ceux qu'elles donnent à une eau où elles auront longtemps bouilli, et jusqu'à faire si l'on veut un consommé. »

Geoffroy fit ses expériences sur de la viande complètement débarrassée de la graisse, des os, des cartilages et des tendons.

Dans un récipient fermé, il fit bouillir avec de l'eau une certaine quantité de viande jusqu'à épuisement complet. Après évaporation et concentration, il obtint un extrait solide, contenant les principes de la viande dégagée, selon lui, « du flegme et de l'humidité ». Cet extrait, distillé au B.-M., fournit « un sel volatil, en cristaux plats et qui paraît être armoniacal, puis de l'huile, et il est resté une tête morte ou charbon très léger ». L'analyse des fibres de viande, après décantation du bouillon, lui donna à peu près les mêmes résultats. Geoffoy termine en disant que « le bouillon de veau convenait beaucoup mieux aux malades qui sont en âge de croître, ou qui sont tombés dans une grande maigreur, à cause des sucs de veau plus propres à former les os et les cartilages que ceux de bœuf ». Ce travail, bien que rudimentaire, fit sensation à l'époque.

1. Lémery. *Traité des aliments*, Paris, Pierre Vitte, 2e édition, p. 234 et 293.
2. Geoffroy le Cadet. *Histoire de l'Académie Royale des sciences* de 1730: des bouillons de viande, p. 45 et 217.

Nous ne voyons pas figurer les bouillons dans la Pharmacopée parisienne de 1645, ni dans les suivantes, mais nous les trouvons mentionnés en détail dans les Pharmacopées françaises de 1818[1], de 1837[2] et de 1866[3] à côté des bouillons de grenouille, de tortue, d'écrevisses et de poulet.

Au commencement du XIX[e] siècle, parut toute une série de publications sur les préparations de viande, émanant de chimistes français tels que THOUVENEL, FOURCROY, VAUQUELIN, THÉNARD, CADET, PROUST et PARMENTIER.

CLAUDE-JOSEPH GEOFFROY, cité plus haut, s'était proposé « de déterminer ce que l'eau bouillante enlève aux viandes, et de connaître la proportion de l'extrait soluble pesé à l'état sec, relativement au résidu indissous pesé de même à l'état sec ».

THÉNARD, en 1807, décomposait l'extrait de bouillon par l'alcool à 80°, en séparait le principe extractif savoureux qui n'avait pas encore été isolé et qu'il nomma osmazôme.

Deux ans plus tard, en 1809, parut dans le *Bulletin de Pharmacie* un travail de CADET DE GASSICOURT[4] et dans lequel l'auteur nous donne une préparation de cette osmazôme qui avait été obtenue avant lui par BERZÉLIUS. Le procédé de CADET consistait à traiter par l'alcool le bouillon très concentré, filtrer et évaporer; ou encore à prendre des muscles sans graisse, hachés très menus; verser peu à peu de l'eau et malaxer. L'eau dissout l'osmazôme et les sels solubles à froid. Passer cette solution à travers un linge et la chauffer; l'albumine se coagule et se sépare en écume; l'osmazôme reste; évaporer ensuite jusqu'à extrait.

Tous les chimistes et les gastronomes de l'époque s'accordent à faire l'éloge de cette substance. BRILLAT-SAVARIN[5] nous dit : « Le plus grand service rendu par la chimie à la science alimentaire est la découverte de l'osmazôme, ou plutôt la précision de l'osmazôme, la partie éminemment sapide des viandes, soluble à froid et qui se distingue de la partie extractive en ce que cette dernière n'est soluble qu'à chaud. » Il ajoute : « C'est l'osmazôme qui fait le mérite des bons potages; c'est pour ménager cette substance, quoique encore inconnue, que s'est introduite la

1. *Pharmacopée française de* 1818, p. 94.
2. *Pharmacopée française de* 1837, p. 258.
3. *Pharmacopée française de* 1866, p. 359.
4. M. CADET. De l'osmazôme et de son emploi. *Bull. de Pharm.*, 1809, [1], 1 : 497.
5. BRILLAT-SAVARIN. *Physiologie du Goût*. Paris, 1907, p. 56.

maxime que, pour faire un bon bouillon, la marmite ne devait que *sourire*. L'osmazôme, ajoute-t-il encore, après avoir fait si longtemps les délices de nos pères, peut se comparer à l'alcool, qui a grisé bien des générations avant qu'on ait su qu'on pouvait le mettre à nu par la distillation. »

Des chimistes modernes signalent encore cette substance dans le compte rendu de leurs analyses, tantôt à côté de la créatine et de la créatinine, comme A. Lankaster[1], tantôt parmi les matières de l'extrait de viande solubles dans l'alcool, comme A. Denaeyer[2].

Parmentier[3] considère cette matière extractive comme la base essentielle d'un bouillon.

Cadet de Gassicourt[4] donne un moyen de l'introduire dans les tablettes de bouillon, et en compose une variété formée de gélatine, d'osmazôme et de gomme arabique; tablettes qui furent, paraît-il, acceptées dans la thérapeutique.

En 1803, Cadet avait publié une brochure sur la gélatine et son bouillon, douze ans après la publication de l'opuscule de Proust, *Recherche des moyens d'améliorer la subsistance du soldat*. Mais plus habile que Proust, il s'était approprié cette découverte, dont tout le mérite reviendrait en réalité aux travaux de Papin, « Sur la manière de faire cuire toute sorte de viande, en peu de temps ».

Les tablettes de bouillon étaient d'un usage courant à cette époque, surtout dans l'armée, où Proust les avait introduites. Ces tablettes contenaient, à côté de plus ou moins de sel de cuisine, beaucoup de gélatine, dont la réputation au point de vue de la valeur nutritive était due aux travaux de Cadet. Celui-ci, dans une brochure publiée en 1818 et intitulée : *De la gélatine des os et de son bouillon*, dit : « Le bouillon de viande n'est point à rigoureusement parler le bouillon de la santé, s'il n'est associé à d'autres éléments ; il n'est pas à coup sûr le bouillon de la maladie, puisque souvent il l'aggrave; comment d'après cela pourrait-il être celui de la convalescence? Dès lors nous avons été autorisé à avancer qu'il ne soutenait pas la comparaison avec celui d'os qui convient à la santé, à l'enfance, à la vieillesse,

1. Chevallier et Baudrimont. *Dict. d'altérations et falsifications alimentaires, médicamenteuses et commerciales*, 7e édit. Paris, 1893-1897, t. II, p. 564-565.
2. A. Denaeyer. Composition des Extraits de viande. *Journ. de Pharm. et de Ch.*, 1897 [6], **6**:357.
3. *Dict. d'Hist. Naturelle*, 1804, p. 250 (art. viandes).
4. Cadet. *Loc. cit.*

aux constitutions faibles, enfin aux estomacs délicats. » Cadet voulait donc exclure le bouillon de viande de l'usage courant; il alla même, paraît-il, jusqu'à taxer le pot-au-feu de vieux préjugé.

D'Arcet[1] partageait l'opinion de Cadet et faisait préparer sur sa proposition, dans l'hospice de clinique interne de la Faculté de Médecine, un bouillon dont les trois quarts de la viande employée habituellement étaient remplacés par de la gélatine. Ce bouillon fut jugé excellent.

Proust[2], à la suite de son rapport en 1821, sur l'analyse des tablettes de bouillon provenant de Buenos-Ayres et d'Angleterre, préparait lui-même des tablettes, ou plutôt un extrait de viande, d'abord avec de la viande sans os, ensuite avec de la viande désossée additionnée d'os. Selon lui, ces tablettes étaient de beaucoup supérieures à celles vendues dans le commerce jusqu'à cette époque, entre autres celles de Buenos-Ayres et d'Angleterre, lesquelles, d'après ses analyses, contenaient jusqu'à 95 °/₀ de gélatine. L'usage des tablettes de bouillon fut toujours très discuté, soit que ces tablettes se conservaient pendant un temps relativement court, soit que leur valeur nutritive fût toujours trouvée inférieure à celle du bouillon de ménage. Néanmoins, Cadet de Gassicourt[3] donnait, en 1842, une nouvelle formule pour la préparation de ces tablettes en ajoutant à leur préparation de la viande de veau et de la gomme arabique. Chaque tablette pesant 15 grammes, dissoute dans 250 grammes d'eau bouillante, donnait une bonne tasse de bouillon. A partir de cette époque, les extraits de viande remplaçaient les tablettes. dont on ne parla presque plus. Cependant, von Dr König[4] cite des analyses de E. Reichardt, en 1869, de tablettes vraies et d'extraits de bouillon.

Plus récemment, M. Barillé[5] fit des analyses comparatives de tablettes de bouillon et d'un bouillon préparé selon les indications du pharmacien inspecteur Jeannel. Actuellement, on trouve très peu de produits dans le commerce désignés sous le nom de tablettes, mais des produits de composition souvent analogue.

1. D'Arcet. *Annales de Chimie*, 1814 [1], **92**:300.
2. M. Proust. Sur les tablettes de bouillon. *Journ. de Pharm.*, 1822 [2], **8**:80.
3. M. F. Cadet de Gassicourt. *Journ. de Pharm. et Ch.*, 1842 [3], **1**:124.
4. König. *Chemie der menslichen Nahrungs und Genussmittel*, 1904, **2**:553.
5. Barillé. Examen de tablettes de bouillon. *Journ. Pharm. et Ch.*, 1895 [6], **2**:193.

A la suite des travaux de d'Arcet, qui s'était occupé de la préparation économique du bouillon d'os, une commission fut nommée dans l'Académie des Sciences pour s'occuper de la question de la gélatine, qui était devenue de plus en plus à l'ordre du jour. Cette Commission était composée de Magendie, Serres, Dupuytren, d'Arcet, Chevreul, Flourens et Sérullas. Le premier travail de cette Commission, qui devait faire beaucoup parler d'elle, fut l'examen du bouillon de la Compagnie hollandaise, examen dont la partie chimique fut confiée à Chevreul. L'étude de ce bouillon était d'autant plus importante que la Compagnie hollandaise était chargée à cette époque de la fourniture du bouillon dans les hôpitaux et hospices de Paris, fourniture qu'elle garda pendant longtemps en totalité, puis en partie, non sans être l'objet de critiques continuelles, et en particulier de la part de M. Piedagnel[1], médecin de l'hôpital Saint-Antoine, qui se plaignit de la mauvaise qualité de ce bouillon destiné aux convalescents. M. Magendie, qui avait fait de nombreuses analyses de ce bouillon, en collaboration avec M. Bouchardat pharmacien en chef de l'Hôtel-Dieu, le jugea supérieur à celui préparé à l'hôpital d'après le nouveau règlement de l'Administration des hôpitaux sur le régime alimentaire de ses établissements.

D'Arcet démissionna de la Commission de la gélatine en 1831 et le rapport sur le bouillon de la Compagnie hollandaise parut en 1832. De cette époque datent les premiers travaux intéressants sur la composition chimique des bouillons.

Chevreul[2], dans la deuxième partie de son rapport, recherche : 1° Les matières volatiles, séparées pendant la coction de la viande, telles que l'ammoniaque, mise en évidence par l'hématéine. Il nota aussi un principe à odeur de viande, un autre principe odorant ambré, et un acide volatil qui aurait de l'analogie avec l'acide acétique.

2° Les principes immédiats de la décoction de viande. Pour cela, Chevreul place dans un récipient 500 gr. de viande désossée, débarrassée autant que possible des tendons et des cartilages, avec un litre et demi d'eau. Le tout est porté peu à peu à l'ébullition pendant cinq heures, en ayant soin de remplacer au fur

1. *C. R. de l'Acad. des sciences*, 1843, **17**: 1244, 1259, 1289.
2. Chevreul. *Nouv. Ann. du Muséum d'Hist. nat.*, 1832, 283-305.

et à mesure l'eau d'évaporation. Laisser refroidir, décanter, dégraisser le bouillon et ajouter de l'eau pour avoir un volume d'un litre.

Chevreul analyse ensuite ce bouillon, en prend la densité qui était de 1.004,5, dose l'eau, les matières organiques fixes dans le vide sec à 20°, les matières inorganiques solubles dans l'eau (potasse, soude, acide sulfurique, acide phosphorique), et, enfin, les matières inorganiques insolubles dans l'eau, telles que phosphate de magnésie, phosphate de chaux et oxyde de fer. C'était là, comme on le voit, une analyse purement minérale.

Chevreul signalait cependant la présence de deux matières azotées, l'une se rapportant à la gélatine et l'autre à ce qu'il appelle l'albumine cuite.

Dans une troisième série de recherches, Chevreul montre que le bouillon préparé en faisant chauffer lentement la viande dans l'eau jusqu'à l'ébullition, est préférable à celui qui est préparé en plongeant la viande dans l'eau bouillante.

Ce dernier contenait 10 °/₀₀ de matières organiques et 2 °/₀₀ de sels fixes, tandis que le premier contenait 13 °/₀₀ de matières organiques et 3 °/₀₀ de sels fixes.

Enfin, dans une quatrième série d'essais, Chevreul montre la supériorité du bouillon de la Compagnie hollandaise en matières organiques sur le bouillon du Val-de-Grâce préparé avec :

Eau	2.000 cm^3
Viande de bœuf excellente	500 gr.
Légumes frais	26 gr. 80
Oignons brûlés	5 gr. 40
Sel	8 gr. 00

de la façon suivante : porter lentement à l'ébullition l'eau contenue dans des vaisseaux de cuivre, où l'on a mis la viande et le sel ; les légumes ne sont introduits qu'après enlèvement des écumes. Concentrer ensuite le liquide à moitié. Ce bouillon donnait à l'analyse une densité de 1.011, 991 gr. d'eau, 8 gr. 82 de matières organiques solubles dans l'alcool faible, 1 gr. 515 de matières inorganiques solubles dans l'alcool faible, 9 gr. 155 de sels solubles de l'eau et 0 gr. 510 de sels insolubles avec des traces d'oxyde de cuivre. A cela, il faut ajouter, dit Chevreul, une matière azotée dite gommeuse ou mucilagineuse, un ou plusieurs acides organiques, plusieurs principes odorants et colorants, du sel de cuisine et les sels contenus dans l'eau commune.

Nous ajouterons à cette étude l'analyse d'un bouillon [1] préparé par CHEVREUL lui-même et dont la formule se rapproche de celle des hôpitaux de Paris et du bouillon de ménage. Ce bouillon était préparé avec 1 K° 4335 de viande de bœuf, 0 K° 430 d'os, 0 K° 0405 de sel marin, 0 K° 331 de légumes et 5 litres d'eau. Il obtenait ainsi au bout de cinq heures de cuisson quatre litres d'excellent bouillon possédant la composition suivante :

Densité	1.013,6
Eau	985 gr. 60
Matières organiques fixes à 20° dans le vide	16 gr. 917
Sels solubles dans l'eau (potasse, soude, chlore, acide sulfurique)	10 gr. 724
Sels insolubles dans l'eau (phosphates de chaux et de magnésie, deutoxyde de cuivre)	0 gr. 359

Nous donnons cette analyse de CHEVREUL afin de pouvoir plus loin la comparer avec celle de différents échantillons de bouillon prélevés dans les hôpitaux de Paris, ou achetés dans le commerce.

J. LIEBIG [2] publia, en 1848, un important travail sur la chair musculaire et les principes nutritifs qu'elle peut céder à l'eau, et prépara à cette occasion un extrait de viande (*extractum carnis*). Max. von PETTENKOFER trouva une méthode appropriée pour la fabrication de cet extrait qui fut accepté en 1856 dans la Pharmacopée bavaroise. Se rappelant ce que PROUST et PARMENTIER avaient déjà dit des qualités nutritives de la viande et de son extrait, PETTENKOFER chercha à le préparer d'une façon économique ; mais c'est à l'ingénieur GIEBERT [3] que revient l'honneur d'avoir réalisé son programme. Celui-ci avait fait un long séjour dans l'Uruguay, où on abattait des milliers de bêtes dont on utilisait la peau seulement, la viande étant jetée à la rivière. Frappé de ce gaspillage, GIEBERT se mit en relation avec LIEBIG, pour étudier sous la direction de PETTENKOFER cette question si intéressante.

Actuellement, la fabrication de l'extrait de viande a lieu sur une grande échelle, et dans la seule ville de Fray-Bentos, on abat chaque année 150.000 à 200.000 têtes de gros bétail. L'extrait de

1. A. CHEVREUL. Examen d'un excellent bouillon. *Nouv. Ann. du Muséum d'Hist. nat.*, 1832, p. 308 (note 2).
2. LIEBIG. *Annuaire de Chimie*, 1848, p. 402.
3. LIEBIG. Sur l'extrait de viande. *Journ. de Pharm. et de Ch.*, 1865 [4], 1 : 156.

viande (*extractum carnis* Liebig) y est fabriqué d'après le procédé de Liebig par une Société anglaise (Extract of meat Company); à Saint-Elena (Argentine), d'après le procédé de Kemmerich; à Montevideo (Uruguay), d'après les indications de Buschental.

A Jersitz, près de Posen, on a fabriqué, paraît-il, de l'extrait avec de la viande de pays. En Australie, on emploie les viandes de mouton. On a essayé aussi de fabriquer de l'extrait avec de la viande de cheval. De nombreuses Compagnies anglaises et américaines se sont formées ces dernières années pour fabriquer des extraits de viande tels que[1] : l'Armour's Extract of Beef, le Beef Extract, etc.; des extraits fluides, comme le Beef Juice, le Meat Juice et le Fluid extract of beef, etc. On fabrique encore d'autres produits se rapprochant de ces derniers, tels que le Maggi's Bouillon, le Bovril seasoned et l'Essence of Mutton, etc.

Ces différentes préparations ont été introduites sur le marché français, de là l'importance d'une méthode générale d'analyse en permettant l'essai simple et rapide.

L'extrait de viande le plus employé dans la consommation journalière est, sans contredit, l'extrait de Liebig, dont le mode de fabrication a été très perfectionné. Actuellement, dans les établissements de Fray-Bentos, on opère de la façon suivante[2] :

La chair des animaux abattus, immédiatement découpée, est conduite par des wagons jusqu'à des hachoirs mécaniques, et de là dans de grandes marmites où la vapeur en extrait tous les sucs. Le liquide ainsi obtenu passe dans des calorisateurs qui en retirent l'eau, et ensuite dans des appareils de distillation qui séparent toutes les matières non dissoutes; surchauffé, filtré, il tombe clarifié dans une nouvelle marmite et se rend à un condensateur où un appareil giratoire le refroidit en le conservant liquide, et dans un autre, où il se refroidit complètement et se réduit en pâte. Le résidu est conduit au moulin, réduit en farine et sert à l'engraissement du bétail.

Ch. R. Valentine[3] donne une préparation des extraits de viande différente de la précédente et beaucoup plus simple.

Souvent, aux Etats-Unis, par exemple, on prépare avec la même viande plusieurs extraits. D'abord un extrait de premier

1. U. S. Department of Agriculture. Bureau of Chemistry. *Bull.* n° 114, p. 8.
2. Emile Daireaux. Voyage à la Plata. *Le Tour du Monde*, 1887.
3. J. Soc. Arts., 1897, **46** : 430.

degré préparé avec du bœuf seulement, puis un extrait d'os auxquels adhère encore beaucoup de viande; c'est là un article de deuxième choix qui est préparé en chauffant les os avec de l'eau, mais sans les faire bouillir. Un autre extrait de deuxième choix est préparé avec du bœuf salé; cet extrait est souvent mélangé avec de l'extrait de bœuf ordinaire. Ce produit se vend sous le terme général d'extrait de viande. Enfin, certains fabricants mélangent de l'extrait de viande ordinaire avec de l'extrait d'os[1].

Le chimiste Jung[2] affirme que l'extrait de Liebig est maintenant fabriqué en ajoutant de l'eau froide à la viande hachée et en chauffant ensuite à 90° pendant une heure, ce qui favoriserait la formation de la gélatine. Cette indication de Jung a été combattue par H. Bremer. Toutes les autres Compagnies ont des procédés particuliers pour la fabrication des extraits de viande, lesquels peuvent renfermer, à côté des éléments ordinaires contenus dans l'extrait de viande, des épices, herbes, voire même des champignons[3].

D'après von Dr Konig[4] on pourrait faire avec une tête de bétail de 150 K°, 5 K° d'extrait; et comme les extraits de viande se vendent actuellement de 25 à 30 francs le K°, on voit que la fabrication de ces sortes de produits ne serait pas rémunératrice en Europe; de là, l'expansion de cette industrie en Amérique, surtout dans l'Amérique du Sud, où le prix du bétail est beaucoup moins élevé.

A la suite des travaux de Liebig, de nombreuses critiques s'élevèrent de toutes parts, notamment en France, sur la valeur nutritive vraie de son produit. C'est ainsi que Chevreul et Payen furent chargés d'examiner l'extrait de viande Liebig présenté par M. de Vogüe[5] dans une des séances de la Société Impériale et Centrale d'Agriculture. D'après ces savants, les tablettes de bouillon et l'extrait de viande ne pouvaient remplacer le bouillon normal. Liebig[6], au contraire, affirme la supériorité de son bouillon d'extrait de viande sur le pot-au-feu.

1. U. S. Department of Agriculture. Bureau of Chemistry. *Bull.*, n° 114, p. 13.
2. Chem.-Ztg, 1900, **24** : 732.
3. Sendtner. *Arch. f. Hygiene*, 1887, **6** : 253.
4. Konig. *Chemie der menslichen Nahrungs und Genussmittel*, 1904, **2** : 554.
5. Observations sur l'Extrait de viande. *Bull. des séances de la Soc. imp. et centr. d'Agriculture*, 1865-66 [3] : 88-89.
6. Liebig. *Journ. de Pharm. et de Ch.*, 1868 [4], **7** : 387.

Deux ans plus tard, des discussions s'élevèrent au sein même de la Société de Pharmacie, afin de savoir si les bouillons préparés avec les extraits de viande de bœuf ou de cheval étaient supérieurs aux bouillons ordinaires[1].

M. Poggiale[2], en 1868, présentait dans une note sur l'extrait de viande les différents extraits livrés au commerce, et, de même que Parmentier, ancien pharmacien inspecteur de l'armée, en recommandait l'usage dans les ambulances, Poggiale le recommande dans les hôpitaux.

A partir de cette époque, de nombreux chimistes, français et allemands surtout, ont essayé de donner des analyses des différents produits à base de viande, dans le but de mettre en relief leur valeur nutritive. Après Proust, Parmentier, Thénard, Chevreul et Liebig, il nous faut citer en France les analyses sommaires de Lebaigues[3] : il dosa l'eau, les cendres, les matières solubles et insolubles dans l'alcool dans le but de séparer la gélatine, l'albumine, la chondrine, de la créatine et de la créatinine, les principes minéraux et l'azote correspondant aux matériaux solubles et insolubles dans l'alcool à 90°.

En Allemagne, parurent à la même époque de nombreuses communications sur ce sujet. Nous citerons comme analyses assez anciennes, à titre purement bibliographique, celles d'Enders[4], de Wagner, de Reichardt et A. Wölker[5] et précédemment celles des laboratoires d'Insterburg, Proskau, etc.[6], et, plus tard, celles de Staats[7].

Les premières analyses sérieuses parues en Allemagne furent publiées à partir de 1880 et portèrent sur les extraits les plus renommés de l'époque tels que ceux de Liebig, Kemmerich, Pastoril, Bovril et Cibils.

E. Wildt, A. Stutzer[8], R. Sendtner[9], Fr. Strohmer[10] et Th. Dietrich[11] analysèrent l'extrait de Liebig en dosant l'eau, les

1. *Journ. de Pharm. et de Chim.*, 1867 [4], **6**:459, et 1868 [4], **7**:57.
2. Poggiale. *Journ. de Pharm. et de Chim.*, 1868 [4], **7**:172.
3. Lebaigues. *Union pharmaceutique*, 1869:213.
4. *Jahresbericht für Chemie*, 1869; 1100.
5. *Jahresbericht für Agriculturchemie*, 1873/74, **2**:21.
6. *Ibid.*, 1867, **10**; 382.
7. *Pharm. Rundschau*, 1883, **1**:23.
8. *Ber. Klinische Wochenschrift*, 1885, n° 15.
9. *Archiv f. Hygiene*, 1887, **6**:253.
10. *Chem. Centr.-Bl.*, 1889, **2**:98.
11. *Zeitschr. f. Untersuchung Nahrungsmittel*, 1894, **9**:5.

matières organiques, l'azote total par les méthodes anciennes, les matières minérales et les matières solubles dans l'alcool à 80°. Stutzer dose en plus la chaux, l'acide phosphorique et le sel marin.

A la même époque, Frésénius[1], Bischof[1], Niederstadt[1], A. Stutzer et R. Sendtner examinèrent l'extrait de viande de Kemmerich, en y dosant les mêmes éléments. Strohmer trouva en plus pour l'extrait de Liebig 0,19 °/₀ d'azote insoluble.

Citons également les analyses de O. Schweisinger[2], de Hilger[3], de Frulhing et Schulz[4] de l'extrait fluide de Cibils, de Janke[5], du *Jonstons fluid beef*.

R. Sendtner et F. Strohmer analysaient, en 1887, les différents produits de la Compagnie Maggi de la même façon que les extraits de Liebig et de Kemmerich.

J. König et W. Kisch[6] trouvaient pour les extraits ferme et fluide de Cibils une teneur en albumoses de 7,26 et 6,51 °/₀ avec 4,33 et 0,83 °/₀ d'albumine coagulable.

De 1893 à 1897, toute une série d'analyses de différents produits fut publiée par les chimistes du laboratoire de Munster, qui y trouvèrent une assez forte quantité de matières albuminoïdes, albumine, albumoses et peptones. D'autres auteurs, tels que J. König et Bömer[7], dans les extraits de Liebig, de Kemmerich, ont également trouvé une assez forte quantité d'albumoses pouvant aller jusqu'à 9,71 °/₀, comme dans l'extrait de Kemmerich de Saint-Elena, en Argentine.

Dans une étude sur l'extrait de viande sud-américain, Kemmerich[8] indique la présence du glycogène aussi bien dans l'extrait de Liebig que dans l'extrait obtenu suivant son propre procédé. Ce corps n'avait pas encore été décelé dans les extraits avant Kemmerich, qui en a trouvé 12 à 14 gr. dans son extrait et de 5 à 6 gr. dans celui de Liebig. Il affirme, en outre[9], qu'un bon

1. *Chem. Centrbl.*, 1882, **13**:734.
2. *Pharm. Centrbl.*, 1889, **30**:96..
3. *Chem. Centrbl.*, 1884, **15**:47.
4. *Ibid.*
5. *Zeitschrift. f. Nahrungsmittel. Untersuchungen*; *Hygiene und Waarenkunde*, 1894, **9**:6.
6. *Zeitschrift für analytische Chemie*, 1889, **28**:191.
7. *Zeitschrift für analytische Chemie*, 1895, **34**:548.
8. Kemmerich. Sur le contenu en glycogène de l'extrait sud-américain. *Centralbl. f. d. med. Wissenschaft*, 1893, n° 12, p. 209-213.
9. Kemmerich. Etude sur l'extrait de viande sud-américain. *Zeitschrift für physiologische Chemie*, 1893, **18**: 409, ou *Jahresberichte f. Th. Chemie*, 1893, **23**:365.

extrait de viande ne contient que peu ou presque pas de créatine, mais une assez forte proportion de créatinine pouvant aller jusqu'à 4,33 °/₀, et qu'il a dosé par le chlorure de zinc alcoolique en solution concentrée et neutre et calculé d'après les données de Hoppe-Seyler sur la crétinine pure.

A côté de 1,22 °/₀ de glycogène et de 4,33 °/₀ de créatinine, Kemmerich trouve dans l'extrait de viande une assez forte proportion d'ammoniaque, de matières grasses, de gélatine, d'albumoses et de peptones vraies (Khune). L'auteur donne également un moyen de séparation peu pratique et peu exact des matières albuminoïdes et collagènes, en précipitant la gélatine par l'alcool à 50°, les albumoses et certaines autres matières albuminoïdes solubles par l'alcool à 80°. Dans la partie soluble dans l'alcool à 80°, Kemmerich recherche et dose les peptones. Quant à la partie minérale de l'analyse des extraits, l'auteur se sert de la vieille méthode de Liebig et trouve comme moyenne de plusieurs centaines d'analyses qu'il a effectuées :

Eau.	14 à 18 °/₀
Matières minérales.	20 à 22 °/₀
Matières organiques solubles dans l'alcool à 80°.	58 à 64 °/₀

La partie soluble dans l'alcool à 80° serait formée de 10 à 12 °/₀ de sel, 10 à 12 °/₀ de peptones et 35 °/₀ de matières extractives. La partie non dissoute dans l'alcool se serait composée de 6 °/₀ de gélatine, 10 °/₀ d'albumoses, 1 °/₀ de glycogène et 8 °/₀ de sels et phosphates terreux. D'après Kemmerich, une partie de l'azote des extraits de viande appartient donc aux albumoses et aux peptones, de valeur nutritive plus élevée que les matières albuminoïdes. La même opinion a été ensuite formulée par Salkowski et Gieske[1], puis par Stutzer, comme le montrent ses analyses des extraits Liebig, Kemmerich et des produits Bovril[2] et aussi par M. A. Gautier[3].

Suivant Kemmerich, les extraits de viande contiendraient le tiers de leur poids d'albumine assimilable; suivant M. A. Gautier, 37 °/₀; suivant Stutzer, 20 à 22 °/₀. Bruylants[4] en trouve

1. Salkowski et Gieske. *Centratbl. f. d. med. Wissenschaft*, 1894, n° 48.
2. Stutzer. *Zeitschrift für angewandte Chemie*, 1895, 8:157; 1895, 8:529.
3. A. Gautier. *Leçons de Chimie biologique normale et pathologique*. Paris, Masson, 1897, p. 273.
4. Bruylants. Recherche sur la composition des extraits de viande. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1897 [6], 5:515.

moins que A. Gautier et Kemmerich, mais plus que Stutzer, qui avait essayé l'action de l'acide trichloracétique, des composés du mercure, de l'acide phosphotungstique, de l'hydrate de cuivre et du sulfate d'ammoniaque sur les différentes matières qui constituent l'extrait de viande[1].

Bruylants a fait l'analyse de l'extrait de Liebig et de différents produits de la Compagnie Bovril en y dosant l'eau, les cendres, le chlorure de sodium, l'azote total, l'azote ammoniacal, les matières insolubles dans l'eau et l'azote de celles-ci, sans faire connaître toutefois les méthodes de dosage qu'il a employées. Il sépare et dose ensuite la gélatine, les albumoses, la peptone, les matières azotées non albuminoïdes solubles et non solubles dans l'alcool au moyen de liquides alcooliques à 40, 80, 93, 94 °/₀, l'alcool à 40 °/₀ précipitant la gélatine; l'alcool à 80 °/₀, les albumoses, et l'alcool à 93 ou 94 °/₀, les peptones. Nous n'insisterons pas sur cette dernière méthode qui a le défaut d'être à la fois longue, fastidieuse et, de plus, très inexacte.

M. Barille[2], dans une analyse d'un bouillon militaire, affirme avoir caractérisé les peptones, par la réaction du biuret et le réactif de Tanret ! !

Contrairement à Kemmerich, Stutzer, Bruylants et A. Gautier, A. Denaeyer[3] prétend qu'il n'existe pas d'albumoses dans les extraits de viande et que le précipité obtenu en ajoutant de l'alcool à une solution diluée d'extrait de Liebig ou de Kemmerich, ne donne pas la réaction du biuret. En outre, il ne trouve pas d'albumine vraie par la chaleur et l'acide acétique et indique un pourcentage en azote total pour l'extrait de Liebig de 8,98 °/₀. L'absence de la réaction positive du biuret, dans l'analyse de A. Denaeyer, vient probablement de la défectuosité de sa méthode, car nous verrons que tous les bouillons et extraits de viande donnent cette réaction au moyen d'un artifice particulier (p. 34).

M. A. Gautier[4] prépare un bouillon alimentaire de la façon suivante : 1 K° de viande maigre de bœuf, bouilli doucement et longuement avec trois fois son poids d'eau de fontaine, donne

1. Stutzer. *Zeitschrift fur analytische Chemie*, 1892, **31**:501.
2. Barillé. *Loc. cit.*
3. A. Denaeyer. Composition des extraits de viande. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1897 [6], **6**:357.
4. A. Gautier. *Bulletin de l'Acad. de médecine*, 1900 [2], **43**:259.

2 litres à 2 litres 1/2 de bouillon. La composition, par litre, de ce bouillon serait la suivante :

Extrait sec	15 à 23 gr.
Matières albuminoïdes	6 à 9 gr.
Bases créatiniques	0 gr. 90
Bases xanthiques	0 gr. 25
Acide inosique	0 gr. 04
Taurine, etc.	0 gr. 12
Inosite et glycogène	1 gr. 40
Acide lactique	0 gr. 20
Matières colorantes, odorantes indéterminées	4 gr. 60
Sels minéraux solubles	3 gr. 76
Sels minéraux insolubles	0 gr. 38

Les sels minéraux seraient formés de 2 gr. 60 de phosphate monopotassique, 0 gr. 70 de chlorure de potassium et de plus faibles quantités de phosphates de chaux, de magnésie, de fer et des traces de chlorure de sodium. M. A. Gautier ajoute : « Si l'on fait le bouillon dans les ménages, en ajoutant du sel de cuisine (7 gr. par litre) et des légumes (carottes, navets, 40 gr. de chaque), poireaux, céleris (20 gr. de chaque), le résidu sec s'élève à 27 gr. 3 au lieu de 19 gr. 1, c'est-à-dire à 1 gr. de plus seulement, en déduisant les 7 gr. de sel ajouté. Il est regrettable que l'auteur n'ait pas calculé le pourcentage en azote total et n'ait pas indiqué les méthodes qui lui ont servi pour la détermination des autres éléments.

D'après M. A. Gautier, l'extrait de Liebig peut contenir au delà du tiers de son poids d'albuminoïdes assimilables, aussi l'auteur considère-t-il cet extrait comme un aliment proprement dit et un tonique de valeur alimentaire égale à celle du bon bouillon de ménage. D'après Langer[1], il n'y aurait pas de peptones dans l'extrait, mais des traces d'albumine et peu d'albumoses, aussi considère-t-il ce produit comme un excitant de la digestion.

L'extrait de viande Liebig, selon M. Vintgen[2], contiendrait 20 °/₀ d'eau, autant de sels, dont surtout du chlorure de sodium et des phosphates alcalins ; le reste consisterait, d'après l'auteur, en bases de viande, créatine, créatinine, xanthine, gélatine et albumoses. D'après le Dr Laves[3], ce même extrait ne contiendrait que 6 à 10 °/₀ d'albuminoïdes.

1. Langer. *Zeitsch. d. Allgem. Osterreich. Apot.-Vereines*, Wien 1900, **54**:210-214, 244-47; *Bull. des Sc. Pharmac.*, 1900, **1**:244.
2. Vintgen. *Ber. deutsch. Pharm. Gesellsch.* Berlin, 1901, **11**:60-77.
3. Dr Laves. *Pharmaceutische Centralhall*, 1901, **42**:82.

J.-G. Girard[1] donne un moyen de séparation des albumoses, des peptones et de la gélatine, en se basant sur la précipitation des peptones par le nitrate mercurique, en l'absence des autres matières albuminoïdes, et sur la précipitation de la gélatine et des albumoses par le sulfate d'ammoniaque.

L'auteur se sert du réactif de Stutzer (hydrate cuprique) pour précipiter les albumoses, à l'exclusion de la gélatine et des peptones. Ces dernières sont ensuite dosées par lui, à l'aide de la méthode de Hallopeau, à l'état de peptonate de mercure.

Outre qu'on ne dose pas les peptones, l'hydrate cuivrique est un réactif se conservant difficilement et qui aurait le grand inconvénient, d'après Stutzer lui-même, de précipiter de petites quantités de peptones.

Des essais faits par nous-même sur la peptone de Witte, nous ont montré qu'en milieu neutre l'hydrate cuivrique, ainsi que l'acétate de cuivre à saturation précipitaient incomplètement les albumoses.

De ce qui précède, il ressort que les méthodes d'analyse des bouillons et extraits de viande, déjà employées, ont conduit souvent leurs auteurs à des résultats contradictoires.

Il était donc intéressant, pour l'essai de ces différents produits, d'employer des procédés de séparation et de dosage suffisamment simples et aussi exacts que possible : de là, l'objet de cette étude.

1. J.-G. Girard. Etude chimique et pharmacologique des préparations de viande. *Thèse de pharmacie*, Toulouse, 1903.

DEUXIÈME PARTIE

CHAPITRE PREMIER

ESSAIS PRÉLIMINAIRES DES BOUILLONS ET EXTRAITS DE VIANDE

Pour fixer la valeur nutritive des bouillons et extraits de viande, il est nécessaire de déterminer tout d'abord qualitativement les éléments qui entrent dans leur composition.

La coloration intense de certaines préparations de viande, telles que les extraits, rend difficile la mise en évidence des corps albuminoïdes ou soi-disant albuminoïdes. De plus, la présence de la gélatine dans ces préparations, indiquée par quelques auteurs comme Denaeyer, augmente encore cette difficulté. En effet, la gélatine présente à la fois certaines réactions des globulines[1] (précipitation par le sulfate de magnésie à saturation en milieu neutre), des albumoses (précipitation par le sulfate d'ammoniaque à saturation et à chaud) et des peptones. Comme ces dernières, la gélatine donne la réaction du biuret et précipite par le tanin.

Nous avons toujours opéré dans les mêmes conditions de concentration : les bouillons ont été essayés sans dilution préalable; aux extraits, nous avons ajouté de l'eau distillée de façon à obtenir une solution à 2 °/₀ environ.

Nos recherches ont d'abord porté sur la caractérisation de l'albumine par la chaleur et les réactifs ordinaires; nous avons ensuite étudié l'action de l'acide acétique, de l'acide azotique, de l'acide citrique, du ferrocyanure de potassium acétique sur les bouillons ou solutions d'extrait de viande. Nous avons tourné la

1. F. Hofmeister. *Maly's Jahresb.*, 1889, **19**: 3.

difficulté provenant de la coloration des solutions étudiées, en effectuant les réactions de Millon, du biuret et xanthoprotéique, caractéristiques des matières albuminoïdes, non pas sur ces solutions elles-mêmes, mais sur le précipité obtenu par l'action du sulfate d'ammoniaque à saturation et à chaud.

Quant au sucre, il était difficile de le mettre en évidence par la liqueur de Fehling, à cause de la présence simultanée de la créatine, de la créatinine et autres matières pouvant gêner la réduction. Nous avons été obligé de caractériser, et de séparer même, les corps réducteurs existant dans les préparations de viande, au moyen de la phénylhydrazine et après défécation.

1° **Recherche de l'albumine.** — Cette recherche est d'autant plus facile que les bouillons et extraits de viande sont toujours acides naturellement, et qu'ils renferment tous une certaine quantité de sels neutres, chlorure de potassium, chlorure de sodium surtout, ajoutés au moment de la cuisson. Il nous a donc suffi de chauffer dans un tube à essai une certaine quantité de bouillon ou de solution d'extrait, sans addition préalable d'acide acétique, pour ne pas précipiter à la fois la mucine ou encore la gélatine et les albumoses en présence de la quantité quelquefois assez forte de chlorure de sodium qui existe dans ces préparations. Dans tous les échantillons examinés par nous, nous n'avons pas trouvé trace d'albumine. En effet, dans la préparation des bouillons de ménage, le liquide naturellement acide est porté à l'ébullition; toute l'albumine, sérine et globuline, se coagule et vient se rassembler à la partie supérieure du récipient sous forme d'écume. Il en est probablement ainsi dans la préparation des bouillons concentrés ou des extraits de viande.

Nous avons trouvé de l'albumine coagulable dans un seul échantillon de bouillon préparé par nous de la façon suivante : 500 gr. de bœuf maigre sont mis à macérer dans un litre d'eau distillée froide pendant 6 heures, on exprime et on porte au bain-marie bouillant pendant un quart d'heure, puis on filtre. La température du bouillon immédiatement avant filtration, mesurée au thermomètre et atteignant 81°, est généralement suffisante pour la précipitation de l'albumine; néanmoins, il est resté une certaine quantité de sérine que nous avons pu caractériser et doser ensuite par la chaleur et l'addition de sel neutre et d'acide acétique.

Certains auteurs, tels que Stutzer, J. König et Bömer, Wisch[1], Langer[2], Bruylants, M. Pouchet[3] et A. Gautier[4], ont signalé cependant la présence d'albumine généralement à l'état de traces, soit dans l'extrait de Liebig, soit dans d'autres extraits de viande. D'après Liebig lui-même[5], un bon extrait de viande ne doit contenir ni albumine, ni graisse, ou 1 gr. 50 de cette dernière au plus, et cela pour éviter une altération rapide du produit alimentaire.

2° **Action de l'acide acétique.** — On obtient parfois par addition de quelques gouttes d'acide acétique aux solutions d'extrait de viande, un léger louche, insuffisant généralement pour pouvoir être caractérisé. Cependant, dans le cas d'un des échantillons d'extrait de viande examiné, en opérant sur un assez grand volume de solution, nous avons obtenu par addition d'acide acétique et au bout de vingt-quatre heures un précipité peu abondant, lequel a été recueilli sur un petit filtre sans plis et lavé à l'eau distillée. Une partie du filtre et du précipité a été traitée au bain-marie bouillant par de l'acide chlorhydrique à 2 °/₀ jusqu'à coloration brune. On laisse refroidir, et on neutralise ensuite avec de la soude. En chauffant ensuite avec de la liqueur de Felhing légèrement diluée, une réduction très nette de cette dernière nous a permis d'affirmer que nous avions affaire à une glycoprotéide.

D'autre part, la recherche des alcali-albumines par neutralisation, a été négative. Nous avons vérifié également l'absence de nucléoalbuminoïdes en traitant une partie du précipité obtenu précédemment dans une capsule de porcelaine avec 2 cm^3 de solution de carbonate de soude à 25 °/₀ et 10 cm^3 d'azotate de soude à 25 °/₀. On évapore jusqu'à siccité et on chauffe la masse jusqu'à fusion.

Par dissolution ensuite dans l'acide azotique, et traitement par le réactif molybdique à chaud, il ne s'est formé aucun précipité de phosphomolybdate d'ammoniaque, caractéristique des phosphoprotéides.

1. König. *Chemie der menslichen Nahrungs und. Genussmittel*, 1903, 1:93, 94, 95.
2. Langer. *Loc. cit.*
3. Dr J. Rochard. *Encyclopédie d'Hygiène*, 1890, 2:279.
4. A. Gautier. *Loc. cit.*
5. König. *Chemie der menslichen Nahrungs und. Genussmittel*, 1904, 2:553.

La dernière partie du précipité était soluble dans l'acide chlorhydrique, ce qui confirme nettement la présence de mucine vraie dans l'échantillon d'extrait de viande analysé.

3° **Réaction de Heller** (*Acide azotique à froid*). — Cette réaction se fait en superposant dans un tube à essai une couche de bouillon ou de solution d'extrait de viande filtrée à une couche d'acide azotique, en évitant le mélange des deux liquides. On laisse reposer quelques secondes et on examine la surface de contact. Dans quelques bouillons de viande, nous avons obtenu un résultat complètement négatif. Certains échantillons ont donné une zone opalescente très légère au contact des deux liquides; d'autres, une double zone séparée par une partie claire. Du fait qu'on obtient un disque nébuleux au contact de l'acide azotique et de la solution examinée, faut-il conclure à la présence d'albumine vraie ou d'albumoses primaires, comme on l'admet généralement? La solution de gélatine (marque Poulenc) à 2 %, privée d'albumine par une longue lixiviation à l'eau froide, ne donne pas la réaction de Heller; mais si on la soumet à l'autoclave seulement pendant quelques heures, surtout en présence de chlorure de sodium, on obtient au bout de ce temps un léger voile opalescent au contact des deux liquides, et cependant la solution examinée ne donne ni la réaction de Millon, ni la réaction au ferrocyanure de potassium acétique et précipite par le sulfate d'ammoniaque à saturation et à chaud.

4° **Réaction citrique**. — Cette réaction se fait d'après la technique enseignée par le professeur Grimbert[1]. Verser dans un tube à essai quelques centimètres cubes de solution sirupeuse d'acide citrique préparé avec 100 gr. d'acide citrique dissous dans 75 cm^3 d'eau, et, sans mélanger, déposer à la surface le même volume de bouillon filtré. On opère de la même façon dans un deuxième tube avec de l'acide azotique. Dans quelques échantillons, nous avons obtenu une zone nébuleuse au point de contact avec l'acide citrique, sur l'acide azotique une zone opalescente également, mais toujours séparée du plan de contact par un espace clair. Plus souvent, nous avons obtenu une légère

1. J. Guiart et L. Grimbert. *Diagnostic chimique, microscopique et parasitologique*, Paris, F.-R. de Rudeval, 1908, 847.

zone opalescente au contact avec l'acide azotique et une zone opalescente au-dessus de la surface de contact de l'acide citrique et du liquide examiné. Enfin, et c'est le résultat le plus général de ce genre d'essai, nous avons obtenu parfois un trouble sur l'acide citrique, et, sur l'acide nitrique, un disque nuageux surmonté d'une zone nébuleuse, mais toujours séparée du disque de contact par un espace clair.

D'après ce qui précède, il est possible que la zone nébuleuse obtenue au point de contact avec l'acide citrique soit due à cette pseudo-albumine, qu'on a rattachée à tort ou à raison à la mucine, ou aux nucléoalbuminoïdes, et que d'autres auteurs, comme Oswald, considèrent comme appartenant au groupe des globulines.

5° **Réaction du ferrocyanure de potassium acétique.** — Cette réaction a été faite directement sur les bouillons filtrés ou les solutions diluées et filtrées d'extrait de viande en ajoutant à 10 cm³ de bouillon ou de solution d'extrait, 1 cm³ de solution de ferrocyanure de potassium à 5 °/₀ et dix gouttes d'acide acétique. Nous n'avons obtenu aucun trouble dans le cas des bouillons de viande, et avec les extraits un très léger louche ne disparaissant pas par la chaleur. De plus, ayant constaté préalablement l'absence d'albumine coagulable, et les peptones ne précipitant pas par le ferrocyanure de potassium acétique, il faudrait en conclure que le louche obtenu avec ce réactif, et ne disparaissant pas par la chaleur, n'est pas dû aux albumoses, mais peut-être à une matière azotée spéciale existant en faible proportion dans les extraits de viande. Il n'est pas dû certainement à la gélatine, cette dernière, ainsi que nous le verrons plus loin, ne précipitant pas par le ferrocyanure de potassium acétique.

6° **Réaction xanthoprotéique.** — On sait que l'acide nitrique à l'ébullition colore les matières protéiques en jaune. Si l'on sature ensuite par l'ammoniaque, la coloration passe du jaune clair au jaune orangé.

La gélatine donne également une coloration jaune clair avec l'acide nitrique, mais ne changeant pas par addition d'ammoniaque.

Tous les échantillons de bouillons, extraits de viande que

nous avons examinés, nous ont donné ce dernier résultat, c'est-à-dire que la coloration, au lieu d'être jaune orangé comme pour les matières albuminoïdes, est restée jaune clair, surtout avec les bouillons ordinaires.

Cette réaction colorée, tout en étant un indice de la présence de la gélatine, ne permet pas de la caractériser nettement.

7° **Réaction du biuret.** — Les réactions du biuret et de Millon sont caractéristiques, l'une des groupes amidés, l'autre du groupe tyrosine de la molécule albuminoïde.

La réaction du biuret s'obtient en ajoutant à 1 cm³ de solution de matière albuminoïde 4 cm³ de lessive de soude pure et quelques gouttes d'une solution de sulfate de cuivre à 1 °/₀. On obtient ainsi une belle coloration rouge violacée.

La gélatine, qui renferme dans sa molécule complexe plusieurs groupes amidés, donne également la réaction du biuret, comme nous le verrons dans les expériences qui vont suivre, mais ne doit pas donner la réaction de Millon.

Dans l'examen des différents échantillons de bouillon ordinaire et d'extrait de viande, nous avons rencontré une grande difficulté dans la réalisation pratique des réactions de Millon et du biuret, difficulté due à la coloration naturellement foncée des liquides à examiner, surtout celle des solutions d'extrait de viande. Nous avons essayé de les décolorer par l'addition de noir animal, mais sans résultat. Il est préférable d'opérer dès lors sur le précipité obtenu par l'action du sulfate d'ammoniaque à chaud, à saturation, et redissous dans l'eau distillée.

Tous les échantillons de bouillons et extraits de viande examinés de cette façon nous ont donné la réaction caractéristique du biuret.

8° **Réaction de Millon.** — Cette réaction s'obtient en ajoutant à 1 cm³ de solution de matière albuminoïde quelques gouttes seulement de réactif de Millon, qui donne, avec les matières protéiques en solution, un précipité blanc se colorant brusquement en rouge par la chaleur.

En opérant de la même façon que pour la réaction du biuret, nous avons obtenu un résultat complètement négatif pour les bouillons de viande ordinaires.

La réaction de Millon, effectuée sur un bouillon préparé par

macération et porté ensuite au B.-M. pendant un quart d'heure (v. tableau p. 99, échantillon n° 6), nous a donné un précipité blanc à froid, se colorant en rouge par la chaleur. Avec les solutions d'extrait de viande, nous avons obtenu d'une façon générale une légère coloration rose à chaud, ce qui permettrait *a priori* de conclure à l'existence de matière protéique vraie à l'état de traces dans les échantillons d'extraits de viande examinés.

CHAPITRE II

PRÉSENCE DE LA GÉLATINE DANS LES BOUILLONS ET EXTRAITS DE VIANDE

La teneur en albumoses des extraits de viande, caractérisés par le sulfate de zinc ou le sulfate d'ammoniaque, a été mise en doute par JUNG[1] et H. BREMER[2]. D'après KÖNIG[3], au contraire, la présence des protéoses dans les extraits est indiscutable, et, en faveur de son opinion, il cite la présence du soufre combiné organique dans l'extrait de viande, variant de 0,135 à 0,48 %. Il ajoute, que la gélatine et la peptone n'ont pu être trouvées dans les extraits de LIEBIG, KEMMERICH et CIBILS en quantité appréciable, et que les protéoses ont dû se former par l'action des acides gras ou des sels minéraux sur les protéides de la viande. Selon KÖNIG, la substance organique de l'extrait de viande serait formée de protéoses, de créatine, créatinine, sarcosine, xanthine, acide inosique, carnosine, acide phosphocréatique et acide sarcolactique.

Soupçonnant la présence de la gélatine dans les bouillons de ménage et dans les extraits de viande, et en présence des difficultés rencontrées précédemment dans l'application des réactions colorées de MILLON et du biuret, lesquelles à elles seules sont suffisantes avec la réaction xanthoprotéique pour caractériser une matière albuminoïde, nous avons été conduits à faire les expériences suivantes.

1. A. JUNG. *Chem. Ztg*, 1900, **24** : 732; 1901, **25** : 2; 1900, **24** : 994.
2. H. BREMER. *Chem. Ztg*, 1900, **24** : 838; 1901, **25** : 23.
3. KÖNIG. *Chemie der menslichen Nahrungs und Genussmittel*, 1904, **2** : 553.

I. — *Caractères de la gélatine.*

La première de nos préoccupations a été de vérifier l'action de certains réactifs sur les solutions de gélatine. La divergence des résultats obtenus provient très probablement de l'impureté de la gélatine employée, qui contient presque toujours une certaine quantité d'albumine. Pour éviter cet inconvénient, nous avons lixivié pendant plusieurs jours à l'eau froide la gélatine (marque POULENC) selon la méthode de NEUMEISTER[1] et nous avons procédé aux essais suivants, après l'avoir dissoute dans l'eau distillée, de façon à obtenir une solution de gélatine à 0 gr. 75 °/₀ environ :

1° Par la chaleur et l'addition d'acide acétique, nous n'avons obtenu ni trouble ni précipité.

2° *Réaction de Heller* (acide azotique à froid). — Pas de zone opalescente au contact des deux liquides.

3° *Sels neutres à saturation.* — Le sulfate d'ammoniaque, le sulfate de magnésie et le chlorure de sodium à saturation et en milieu neutre ont précipité totalement la gélatine ainsi purifiée.

4° *Ferrocyanure de potassium acétique.* — Ne donne ni trouble, ni précipité.

5° *Réactif de Mayer.* — Pas de trouble, ni précipité.

6° *Réaction du biuret.* — Est positive.

7° *Réaction xanthoprotéique.* — Coloration jaune clair par addition d'ammoniaque, moins foncée qu'avec les matières albuminoïdes.

8° *Réaction de Millon.* — Nous avons obtenu une très légère coloration rosée à chaud, non en rapport avec la quantité de gélatine contenue dans la solution employée pour cet essai. Faut-il s'étonner de ce résultat? On sait, en effet, que les gélatines commerciales, même les plus belles, contiennent toujours de l'albumine à l'état de traces, dont il est difficile de se débarrasser. D'après certains auteurs, la gélatine pure du commerce, traitée par la méthode de NEUMEISTER, renfermerait toujours, malgré les lavages successifs qu'on peut arriver à lui faire subir, de très légères traces d'albumine, lesquelles seraient suffisantes pour donner faiblement la réaction de MILLON.

1. NEUMEISTER. *Lehrb. d. physiol. Chem.*, 1893, 1 : 47.

Il est permis cependant d'émettre un doute à cette hypothèse, car la solution de gélatine purifiée qui a servi à nos expériences ne donne aucune des autres réactions principales de l'albumine coagulable (chaleur, réaction de HELLER, ferrocyanure de potassium acétique).

Nous avons poussé nos expériences sur la gélatine, en milieu neutre, en solution à 5 °/₀, additionnée de 10 °/₀ de chlorure de sodium et portée à l'autoclave à 130° pendant une heure et demie, de façon à obtenir, d'après MM. DASTRE et FLORESCO[1], une digestion saline de la gélatine. Les résultats obtenus sont les suivants :

1° *Réaction de Heller.* — Cette réaction nous a donné une légère zone nébuleuse au contact des deux liquides.

2° *Sels neutres à saturation.* — Il ne s'est formé aucun précipité par addition, en milieu neutre, de chlorure de sodium à saturation. Le sulfate de magnésie, dans les mêmes conditions, semble précipiter incomplètement la gélatine ainsi solubilisée, même après un contact de vingt-quatre heures. En effet, le liquide séparé du précipité obtenu après addition de sulfate alcalino-terreux donne encore les réactions du biuret et xanthoprotéique, mais ne donne pas la réaction de MILLON.

3° *Réaction du ferrocyanure de potassium acétique.* — Est négative.

4° *Réactif de Mayer.* — L'addition de ce réactif, à la solution de gélatine obtenue, neutre, n'a produit ni trouble, ni précipité.

5° *Réaction du biuret.* — Est encore positive.

6° *Réaction xanthoprotéique.* — Coloration jaune clair.

7° *Réaction de Millon.* — Cette réaction a été négative.

La gélatine ainsi solubilisée a été traitée par le sulfate d'ammoniaque à saturation et à chaud. On obtient ainsi un volumineux précipité qui donne encore la réaction du biuret, mais ne donne pas la réaction de MILLON, caractéristique du groupe tyrosine de la molécule albuminoïde.

Toute la gélatine solubilisée ou la protogélatose, comme l'appellent MM. DASTRE et FLORESCO, a été ainsi précipitée, le liquide filtré ne donnant pas la réaction du biuret.

1. DASTRE et FLORESCO. *Comptes rendus Soc. Biologie*, 1895 : 668.

Nous avons également ensemencé du *bacillus subtilis* sur le milieu suivant neutralisé et stérilisé à 105° pendant dix minutes.

Gélatine purifiée	10 gr.
Phosphate d'ammoniaque	2 gr.
Eau distillée	100 cm³.

Au bout de quelques jours, ce milieu complètement liquéfié par un séjour à l'étuve à 36° a été soumis aux réactions suivantes :

La réaction de Heller était devenue franchement positive ; la réaction au ferrocyanure était restée négative, et l'addition de chlorure de sodium à saturation ou de réactif de Mayer n'a produit aucun trouble, ni précipité. Quant à la réaction de Millon, elle était devenue franchement positive surtout à chaud.

Mais ce qui nous a le plus frappé dans cette dernière expérience, c'est l'absence de précipitation par addition de réactif de Mayer, lequel, comme nous le verrons plus tard, précipite les différentes albumoses ainsi que la peptone d'albumine. Pour contrôler ces derniers faits, nous avons fait agir le sulfate d'ammoniaque à saturation (80 °/₀) et à chaud sur le milieu de culture en question neutralisé. Nous avons obtenu ainsi un précipité abondant, qui, dissous dans l'eau, après lavage à l'alcool à 96°, donnait les trois réactions caractéristiques des matières albuminoïdes, Millon, biuret et xanthoprotéique ; la réaction de Heller était encore positive. Enfin, ce qui vérifie l'expérience précédente, l'addition de ferrocyanure de potassium acétique ou de réactif de Mayer n'a donné aucun précipité.

II. — *Séparation des matières albuminoïdes dans la peptone de Witte.*

Nous avons fait cette séparation, dans le but d'étudier plus loin (page 42) l'action d'un certain nombre de sels neutres à saturation et de divers réactifs sur les solutions neutralisées des différentes matières protéiques (albumoses primaires et secondaires, peptone vraie) contenues dans la peptone de Witte, considérée généralement comme produit pur et de trouver ensuite un moyen de les séparer de la gélatine dans les milieux où ces diverses substances se trouvent mélangées ou peuvent être mélangées. A cet effet, nous avons préparé une solution de peptone

de Witte à 5 %, neutralisée ensuite, afin de précipiter les syntonines qui auraient pu se trouver dans l'échantillon de peptone en question, laisser reposer et filtrer. Le tout a été précipité par addition de sulfate d'ammoniaque à saturation et à chaud, et filtré ensuite sur un filtre Schleicher sans plis pour recueillir le précipité formé.

Le liquide filtré, donnait encore très nettement la réaction du biuret, ce qui nous permet de conclure à la présence de peptone vraie de Khune, de peptide de Fischer ou de peptoïdes de Hofmeister dans l'échantillon examiné. Le précipité obtenu avec le sulfate d'ammoniaque, lavé avec une solution saturée du même sel, puis à l'alcool à 96°, dissous dans l'eau distillée et traité à froid par du sulfate de magnésie chimiquement pur à saturation (80 %) a donné après vingt-quatre heures de repos un nouveau précipité formé de gélatine ou d'albumoses. Le liquide filtré, séparé du précipité obtenu avec le sulfate de magnésie, donnait encore la réaction des matières albuminoïdes. De plus, l'addition de 10 gouttes d'acide acétique ou d'acide azotique au mélange de 10 cm^3 de ce liquide filtré avec 10 cm^3 de solution saturée de chlorure de sodium pur, nous a permis de constater la formation d'un précipité disparaissant à chaud et se reformant par refroidissement, ce qui semble caractériser franchement les deutéroalbumoses, dans le filtrat précédent, d'après la théorie de l'école de Khune [1], sur la non-précipitation des albumoses secondaires en milieu neutre par le sulfate de magnésie à saturation.

Nous avons ensuite essayé de caractériser le précipité obtenu avec le sulfate de magnésie à saturation. Ce précipité dissous dans quelques centimètres cube d'eau distillée, nous a donné une zone opalescente au contact de l'acide azotique.

Le ferrocyanure de potassium acétique produit un précipité disparaissant à chaud et se reformant à froid, ce qui caractérise nettement les albumoses primaires dans la peptone de Witte.

Nous verrons plus loin (page 43) que par addition de réactif de Mayer à des solutions neutralisées d'albumoses primaires ou secondaires, on obtient une précipitation complète de ces albumoses.

1. *Zts. Biologie*, 1886, **22**:423.

III. — *Essai de séparation de la gélatine des matières albuminoïdes.*

Nous avons dès lors cherché à séparer la gélatine des albumoses, en utilisant les solutions d'albumoses primaires et secondaires précédemment obtenues.

Avant de donner les résultats de notre travail sur la séparation de la gélatine, des matières albuminoïdes, albumoses, peptone, nous croyons utile de donner quelques indications rapides à ce sujet sur les travaux parus jusqu'à ce jour.

Nous citerons pour mémoire les travaux de Kemmerich et de Bruylants, la méthode de Stutzer [1], modifiée récemment par Bigelow [2], la méthode d'Obermayer [3], d'Obermayer et Raabe [4] consistant dans l'emploi d'acide trichloroacétique, et discutée ces derniers temps en Amérique. Une des méthodes les plus ingénieuses était la méthode de Beckmann [5], qui peut être appliquée, d'après l'auteur, à la recherche de la gélatine dans les extraits de viande et dans le lait falsifié par une émulsion de gélatine et de corps gras [6]. Le principe de cette méthode est le suivant : lorsqu'on ajoute de l'aldéhyde formique à une solution de gélatine, il se forme un précipité de formol-gélatine. Il est démontré d'après l'auteur que beaucoup d'acides libres empêchent la précipitation de se produire. Le formol, d'après Beckmann, précipiterait également l'albumine; de là un moyen de séparation totale de l'albumine et de la gélatine des autres matières albuminoïdes. D'après nos expériences personnelles, ce procédé, qui semble applicable aux solutions de gélatine pure, ne l'est plus pour des mélanges de gélatine et d'albumoses.

Les différents réactifs indiqués jusqu'à présent pour cette séparation sont inconstants ou d'une application difficile. Stutzer avait employé sans succès le sublimé (qui ne précipite pas la gélatine mais précipite incomplètement les albumoses en milieu neutre et à saturation), l'oxyde jaune de mercure et l'hydrate cuivrique récemment préparés. Le meilleur des réactifs

1. Stutzer. *Zts. anal. Chemie*, 1895, **34**:568.
2. U. S. Dept. Agr., Bureau of Chemistry, *Bull.*, n° 107, p. 116.
3. Obermayer. *Zts. anal. Chemie*, 1890, **29**:114.
4. *Zts. anal. Chem.*, 1882, **21**:303.
5. Ernst Beckmann. *Analyst*, 1895, **20**:44.
6. *Report of Thirteenth assembly of Bavarian Chemists*, 1894, p. 18-20.

déjà employés serait le ferrocyanure de potassium acétique préconisé par M. A. Gautier[1] : il précipite les albumoses, sans toucher à la gélatine. Il suffit ensuite de filtrer, de dialyser le précipité formé pour enlever tout le ferrocyanure ; il resterait alors les albumoses qu'on peut caractériser et même doser par pesée.

Nous avons vérifié l'action de certains sels en milieu neutre sur des solutions de gélatine à 1 ou 2 °/₀ et sur des solutions d'albumoses primaires (précipitables par le sulfate de magnésie à saturation en milieu neutre) séparées précédemment dans l'étude de la peptone de Witte.

C'est ainsi que le tanin, l'acide phosphomolybdique, le sulfate de zinc, l'acétate ferrique à saturation, précipitent les albumoses primaires et la gélatine. A saturation, le sulfate de cuivre ne précipite ni la gélatine, ni les albumoses. Dans les mêmes conditions, l'acétate de zinc et l'acétate de cuivre ne précipitent pas les solutions de gélatine, mais précipitent incomplètement les solutions d'albumoses primaires. Quant à l'acétate de soude, il précipite à la fois la gélatine et les albumoses primaires.

Ne trouvant pas de sels capables de séparer directement la gélatine des albumoses, nous avons employé à cet effet des réactifs connus que nous avons fait agir comparativement sur une solution de gélatine à 1 °/₀ et sur une solution d'albumoses (précipitables par le sulfate de magnésie à saturation et en milieu neutre). Les résultats sont consignés dans le tableau suivant :

RÉACTIFS	SOLUTION DE GÉLATINE à 1 %	SOLUTION D'ALBUMOSES primaires (précipitables par SO^4Mg à saturation en milieu neutre)
1° Tanret	Précipité.	Précipité.
2° Bouchardat . . .	Id.	Id.
3° Patein	Id.	Id.
4° Esbach	Id.	Id.
5° Eau bromée . .	Pas de précipité.	Id.
6° Millon	Id.	Précipité rouge à froid.
7° Mayer	Id.	Précipité.

1. A. Gautier. *Loc. cit.*

L'emploi du brome avait déjà été indiqué par Allen et Searle[1] comme réactif pour la séparation des matières albuminoïdes.

D'après Schjerning[2] et certains auteurs, et d'après nos expériences, le brome est d'un emploi difficile et possède le grand inconvénient de précipiter incomplètement et les albumoses primaires et les albumoses secondaires. Le réactif de Millon (contenant de l'azote) peut servir dans une séparation qualitative de mélanges de gélatine et d'albumoses, mais ne peut être appliqué dans des essais quantitatifs. Nous avons songé également à l'emploi de l'acide phosphotungstique, qui aurait l'inconvénient de précipiter non seulement la plupart des diaminoacides, comme l'indique Hammarsten[3], mais aussi l'ammoniaque et les monoaminoacides, tels que l'alanine.

Le réactif qui nous semble le plus pratique pour ce genre de recherches est donc le réactif de Mayer, préparé avec :

Bi-chlorure de mercure.	1 gr. 355
Iodure de potassium	5 gr.
Eau distillée. . . . . Q. S. P.	100 cm^3

Ce réactif a l'avantage de pouvoir être employé en excès.

Nous avons étudié son action sur des solutions d'albumoses primaires (précipitables par SO^4Mg à saturation), sur des solutions d'albumoses secondaires (précipitables par le sulfate d'ammoniaque à saturation et à chaud, mais non précipitables par le sulfate de magnésie) et sur des solutions de peptone vraie (Khune). Dans les trois essais, nous avons obtenu un précipité, lequel après repos, séparé par filtration sur un petit filtre Schleicher sans plis, a donné les trois réactions caractéristiques des matières albuminoïdes, xanthoprotéique, Millon et biuret; le liquide filtré, par contre, ne donnait aucune de ces réactions.

Afin de vérifier si la précipitation avait été complète dans chaque opération, nous avons ajouté au liquide filtré du réactif phosphotungstique : le léger précipité obtenu, décomposé par un peu d'eau de baryte et filtré, ne donnait pas la réaction du biuret.

1. A. H. Allen et A. B. Searle. *Analyst*, 1897, **22**:258.
2. Schjerning. *Zts. anal. Chem.*, 1900, **39**:545.
3. Hammarsten. *Physiological Chemistry*, 1904, 80.

IV. — *Caractérisation de la gélatine dans les bouillons.*

Une assez grande quantité des différents échantillons de bouillons soumis à nos analyses, a été traitée par du sulfate d'ammoniaque à saturation et à chaud.

Le précipité formé et le liquide qui le baigne ont été étudiés séparément. Disons immédiatement que les résultats négatifs obtenus sur ce liquide filtré avec les réactifs xanthoprotéique, Millon et biuret permettent de conclure à *l'absence de peptone vraie* aussi bien dans les bouillons que dans les extraits de viande.

Le précipité obtenu avec le sulfate d'ammoniaque, lavé à l'alcool à 96°, dissous dans l'eau distillée, a servi aux expériences suivantes. Une partie (après neutralisation) a été saturée à froid par du sulfate de magnésie chimiquement pur et pulvérisé.

Le précipité obtenu après vingt-quatre heures séparé par filtration, donnait toujours la réaction du biuret, mais ne nous a jamais fourni, du moins pour les bouillons proprement dits, ni la réaction de Millon, ni la réaction xanthoprotéique et du fait même que le liquide filtré ne donne aucune des *trois* réactions des matières protéiques, nous pouvons conclure à l'absence totale de deutéroalbumoses dans les bouillons de ménage. Les réactions de Heller, de l'acide citrique et de l'acide acétique sur le précipité obtenu par addition de sulfate de magnésie à saturation et dissous dans l'eau distillée, ont toujours été complètement négatives. Enfin, et c'est le point intéressant de cette étude des bouillons, nous n'avons jamais obtenu de précipité par l'addition de ferrocyanure de potassium acétique ou de réactif de Mayer. Dans le cas du bouillon préparé par nous au bain-marie et caractérisé par la présence d'albumine coagulable, après la séparation de cette dernière par la chaleur et l'acide acétique, le liquide filtré n'a donné ni la réaction de Millon, ni la réaction xanthoprotéique, ni la réaction du biuret. En effet, dans un bouillon préparé au bain-marie, les matières collagènes des tendons et des cartilages n'ont pas encore été transformées en gélatine, vu la faible température (80°-82°) et le peu de temps pendant lequel il a été soumis à l'action de la chaleur.

D'après les expériences que nous venons d'effectuer successivement : absence de réaction de Millon, non-précipitation par le ferrocyanure de potassium acétique et le réactif de Mayer, et, de

plus, précipitation par le chlorure de sodium à saturation et en milieu neutre, nous pouvons conclure uniquement à la présence de gélatine dans les bouillons de ménage, dans les bouillons du commerce et dans les bouillons des hôpitaux de Paris examinés par nous. Ces résultats peuvent être résumés dans le tableau suivant :

Bouillon saturé à chaud
par du sulfate d'ammoniaque = précipité; filtrer :

1° *Liquide filtré.* — Absence des trois réactions (xanthoprotéique, biuret, MILLON) = pas de peptones vraies;

2° *Précipité.* — Redissous dans l'eau et saturé de sulfate de magnésie = précipité, filtrer :

1° *Liquide filtré.* — Absence des trois réactions = pas de deutéroalbumoses.

2° *Précipité* :	Réaction du biuret	+	Donc, *gélatine* et absence de protalbumoses.
	Réaction xanthoprotéique	0	
	Réaction de MILLON	0	
	— HELLER	0	
	— citrique	0	
	— MAYER	0	
	— du ferrocyanure acétique	0	

V. — *Caractérisation de la gélatine dans les extraits de viande.*

Les résultats sont sensiblement les mêmes dans le cas des extraits de viande. Leur étude n'a pas permis de déceler la moindre trace de peptone vraie (KHUNE) après précipitation à chaud par le sulfate d'ammoniaque à saturation et vérification par le réactif phosphotungstique. La recherche de l'albumine et des syntonnines a été négative. Après traitement des solutions d'extrait de viande par le sulfate d'ammoniaque, le précipité obtenu et le liquide qui le baigne ont été examinés séparément. Le précipité donne les trois réactions des matières albuminoïdes : xanthoprotéique, MILLON et biuret. Si on le redissout dans l'eau et si on le traite par du sulfate de magnésie à saturation, on obtient un nouveau précipité donnant les trois réactions précédentes. Quant au liquide filtré, il nous a donné nettement un précipité avec le réactif de MILLON, se colorant en rose à chaud, le liquide surnageant étant incolore; mais n'a donné ni la réaction xanthoprotéique, ni la réaction du biuret, donc pas de matière protéique.

Le précipité obtenu par addition de sulfate de magnésie a été dissous dans l'eau distillée et additionné de réactif de Mayer. Nous avons obtenu dans la plupart des extraits un léger précipité au bout de vingt-quatre heures, donnant faiblement les réactions de Millon, du biuret et xanthoprotéique. Dans le liquide filtré, au contraire, la réaction du biuret était franchement positive, les réactions de Heller et citrique étaient négatives; de plus, nous n'avons obtenu aucun résultat par addition de réactif de Millon ou de ferrocyanure de potassium acétique, ce qui permet de conclure à l'existence de la gélatine dans les extraits de viande, à côté de très faible quantité d'une matière albuminoïde autre que l'albumine ordinaire et les peptones, et caractérisée par la réaction de Millon.

Exemple : N° 7 (voir tableau p. 99).

Solution d'extrait de viande saturée à chaud par du sulfate d'ammoniaque = précipité, filtrer :

A. *Filtrat.* — Absence des trois réactions (xanthoprotéique, biuret, Millon) = pas de peptones vraies.

B. *Précipité.* — Trois réactions positives. Dissoudre le précipité dans l'eau et saturer ensuite par du sulfate de magnésie = précipité, filtrer.

C. *Filtrat* : réactions	1° xanthoprotéique. . .	—	Donc, pas d'albumoses secondaires.
	2° du biuret.	—	
	3° de Millon.	—	

D. *Précipité.* — Le redissoudre dans l'eau et ajouter du réactif de Mayer = léger précipité, filtrer.

E. *Précipité.* — Trois réactions (xanthoprotéique, Millon, du biuret) légèrement positives = traces d'albumoses.

F. *Filtrat* : réactions	1° du biuret	+	Donc, *gélatine* et présence de traces d'albumoses.
	2° xanthoprotéique	—	
	3° de Millon	—	
	4° de Heller.	—	
	5° du ferrocyanure acétique .	—	
	6° citrique	—	

Nous avons vu précédemment que la gélatine solubilisée par du *bacillus subtilis* pouvait donner franchement la réaction de Millon; il est possible également que dans des produits comme les extraits de viande conservés plus ou moins longtemps dans des récipients non stérilisés, l'action du *subtilis* (dont nous avons constaté la présence dans certains extraits) ou celle d'autres microbes liquéfiants se fasse sentir. De plus, le muscle contiendrait une diastase protéolytique, qui hydrolyserait, d'après

Salkowski[1], Hedin et Rowland[2], les matières albuminoïdes avec production de tyrosine, et qui agirait en milieu neutre, acide ou alcalin. Dans ces conditions, il ne serait pas étonnant que la réaction de Millon, obtenue avec les extraits de viande, soit due à de petites quantités d'albumine solubilisée et de tyrosine, formées dans des viandes abattues depuis un certain temps.

D'après cela, il est donc possible d'affirmer d'une façon générale qu'il n'existe pas de matière albuminoïde proprement dite dans les bouillons concentrés et dans les extraits de viande, en quantité appréciable. Selon Bremer, l'extrait de Liebig renfermerait des traces de gélatine et de gélatoses et une certaine quantité d'éléments albuminoïdes solubles. König et Bömer[3], sans trouver de peptones vraies dans les extraits de Kemmerich et de Liebig, y ont constaté une quantité d'albumoses pouvant aller jusqu'à 7 et 8 °/₀.

M. Ch. Girard[4] dit que le bouillon de viande est quelquefois falsifié par addition de gélatine, et ajoute que cette fraude est facile à reconnaître en séparant les graisses et en concentrant le bouillon qui se prend en gelée sous un petit volume; méthode insuffisante quand il s'agit de déceler de faible quantité de gélatine, comme celle qui existe dans les bouillons ordinaires.

L'addition de gélatine aux extraits de viande et aux bouillons, dans le but de remplacer une certaine quantité d'azote manquant, a été pratiquée autrefois et l'est encore, paraît-il, en Amérique, où des fabricants peu scrupuleux cherchent à combler ce déficit d'azote afin d'échapper aux poursuites légales, chaque produit à base de viande, extrait, bouillon, jus de viande, etc., devant contenir un minimum d'azote. Ces différents produits d'origine étrangère sont déjà répandus sur le marché français, de là la nécessité d'une méthode d'essai suffisamment pratique de ces préparations.

1. Salkowski. *Zest. klin. Med.*, 1890.
2. Hedin et Rowland. *Zest. physiol. Chemie*, 1901, **32** : 537.
3. König et Bömer. *Zeitschrift anal. Chemie*, 1895, **34** : 549.
4. Ch. Girard. *Analyse des matières alimentaires*, Dunod, Paris, 2e édit., 1904 : 500.

CHAPITRE III

RECHERCHE ET NATURE DES MATIÈRES RÉDUCTRICES DANS LES PRÉPARATIONS DE VIANDE, BOUILLONS, ETC. ET DANS LA VIANDE MUSCULAIRE ELLE-MÊME.

Chevreul[1] est le premier qui ait signalé la présence de sucre dans une décoction de viande faite à l'eau distillée, sans déterminer cependant la nature de ce sucre.

En précipitant l'extrait aqueux de viande privé d'albumine et d'acide phosphorique par un mélange d'acétate de plomb et d'ammoniaque, décomposant ensuite par l'hydrogène sulfuré, et en précipitant le liquide par la potasse et la soude, Meissener[2] aurait isolé une matière sucrée qui réduisait les sels de cuivre en milieu alcalin.

M. Charles Richet[3] dans l'analyse du sérum musculaire obtenu par compression de la viande au moyen d'une forte presse, dit avoir trouvé des traces de glucose.

En 1879, J. Martenson[4] a signalé la présence de sucre dans le *Natürliche Fleichextract* (jus de viande fabriqué à Saint-Pétersbourg) en soumettant à l'action de la presse hydraulique de la viande de muscle dégraissée : l'auteur en question y signale, à côté de gélatine et d'albumine, 0,30 °/₀ de sucre.

C. Stood et W. Kisch[5] ont trouvé dans un bouillon Maggi, après hydrolyse avec 2 °/₀ d'acide chlorhydrique, une quantité de sucre réducteur correspondant à 18,82 °/₀!! et n'ont pas trouvé dans ce bouillon un sucre réduisant directement la liqueur de Felhing.

1. Chevreul. Du bouillon considéré relativement à sa composition chimique. *Nouv. Ann. du Mus. d'Hist Nat.*, 1832, 286 (2ᵉ partie).
2. Meissener. *Göttingen Nachrichten*, 1862, 157.
3. Ch. Richet. *Comptes rendus*, 1900, **131** : 1314.
4. J. Martenson. *Archiv der Pharmacie*, 1879, **214-215** : 248.
5. Konig. *Chemische der menslichen Nahrungs und Genussmittel*, 1903, **1** : 95.

En 1893, Kemmerich[1] fit bouillir des solutions d'extrait de viande débarrassées des matières protéiques ou collagènes par l'acétate neutre et l'acétate basique de plomb, avec de la liqueur de Fehling, et n'obtint aucune réduction. Il rechercha également la dextrine et le maltose dans les extraits de viande où ils avaient été signalés avant lui par certains auteurs; ses expériences furent sans résultat. Il chauffa ensuite pendant six heures au bain-marie une certaine quantité d'extrait de viande avec de l'acide sulfurique à 3 °/₀ dans un réfrigérant à reflux, puis précipita les matières albuminoïdes par l'alcool absolu et titra enfin à la liqueur de Fehling. Il obtint ainsi une teneur en sucre de 0,30 à 0,50 °/₀, correspondant d'après lui au glycogène de l'extrait.

En opérant ainsi, il détruisait une partie des corps réducteurs, pentoses, acide glycuronique, qui auraient pu exister normalement dans l'extrait de viande, en les transformant en furfurol par l'acide sulfurique. Notons en passant que les essais de Kemmerich ont porté, non pas sur les bouillons de viande, mais sur les extraits qui ne contiennent généralement pas de matières réductrices, telles que glucose ou acide glycuronique.

Le laboratoire de recherches de Munster a publié aussi deux analyses de bouillon et extrait de bouillon, mentionnés dans les classifications de König et qui contenaient : l'un, 6,05, et l'autre, 6,09 °/₀ de dextrose. Ce sucre a sans doute été ajouté dans le but de falsifier le produit en l'édulcorant.

Dans un bulletin de l'U. S. Department of Agriculture[2], W. D. Bigelow et F. C. Cook signalent la présence de sucre réducteur dans deux échantillons d'extrait de viande sur six analysés. Ces auteurs n'ont pas cherché à déterminer le sucre réducteur constaté et n'indiquent pas non plus leur méthode de recherche.

C'est alors que nous avons entrepris d'examiner si les bouillons et les extraits de viande contenaient réellement des corps réducteurs et, si oui, de déterminer quelle est leur nature.

1. Kemmerich. *Zeitschrift f. physiol. Chemie*, 1893, **18** : 408-422.
2. U. S. Department of Agriculture. Bureau of Chemistry. *Bull.* n° 114 : 44.

I. — *Action de la liqueur de Fehling sur les bouillons et sur les solutions d'extrait de viande.*

Il ne faut pas songer à rechercher directement le sucre dans les bouillons et extraits de viande, ces produits contenant, certains principalement, une assez forte proportion de créatine et de créatinine, lesquelles en présence de petite quantité de glucose, comme l'a montré M. Grimbert, gênent la réduction de la liqueur de Fehling. On obtient parfois, en recherchant directement le glucose dans les bouillons et extraits de viande, une réduction douteuse avec la liqueur de Fehling, réduction que quelques auteurs ont attribuée à la présence d'extrait de levures.

L'addition frauduleuse d'extrait de levures aux produits à base de viande a été pratiquée ces dernières années en Allemagne : falsification ingénieuse, car les deux variétés, extrait de levures et extrait de viande contiennent à peu près les mêmes principes azotés. Wintgen[1] va même plus loin et considère ces deux genres de produits comme pratiquement identiques, leur valeur réciproque dépendant uniquement de leur contenu en azote.

Les préparations de viande pouvant contenir, en dehors du glucose, certaines substances capables d'agir sur la liqueur de Fehling, il est indispensable de leur faire subir une défécation préalable. Le sous-acétate de plomb liquide a l'inconvénient de ne pas précipiter ou de précipiter incomplètement certaines matières albuminoïdes. Le réactif de Courtonne (solution d'acétate neutre de plomb) possède l'avantage de les précipiter complètement, et de ne pas éliminer les composés glycuroniques. Nous avons employé de préférence le nitrate mercurique, en suivant pas à pas la technique de MM. Patein et Dufau. Nous avons réalisé directement cette défécation sur les bouillons ordinaires, les extraits ont été additionnés d'eau distillée de façon à obtenir une solution à 10 ou 12 °/₀ environ.

La technique à suivre est la suivante :

100 cm³ des solutions précédentes sont additionnés de 50 cm³ de réactif de Patein et Dufau[2]; puis on ajoute goutte à goutte et

1. Wintgen. *Pharm. Ztg.*, 1905, **50** : 432.
2. Patein et Dufau. *C. R. Ac. des Sciences*, 1899, **128** : 375.
Ce réactif se prépare de la façon suivante : Mettre dans une capsule de porcelaine 160 cm³ d'acide azotique de D = 1,39 (40°B) et ajouter en, remuant vivement

le plus rapidement possible de la soude diluée jusqu'à réaction neutre au tournesol sensible. Filtrer, ajouter 4 gr. environ de zinc pulvérisé, et agiter de temps en temps pendant deux heures. Filtrer, alcaliniser avec quelques gouttes de soude de manière à redissoudre l'oxyde de zinc, qui aurait pu se précipiter et essayer alors la réduction à chaud à la liqueur de Fehling.

Nous avons obtenu une réduction très légère avec tous les échantillons de bouillons sauf un provenant du commerce et qui possédait tous les caractères d'un bouillon préparé avec de l'extrait de viande. Un seul extrait acheté sur la place de Paris nous a donné une réduction de la liqueur de Fehling.

Nous pouvons déjà en conclure à l'existence normale d'une ou plusieurs matières réductrices dans les bouillons de viande, surtout dans les bouillons de ménage, et accidentellement dans les extraits de viande. Il reste donc à déterminer la nature des matières réductrices en question.

Beaucoup de chimistes en ont déduit simplement la présence d'un corps réducteur, d'autres, plus affirmatifs, ont cru avoir affaire à du dextrose.

Pour effectuer cette recherche, nous avons opéré sur un litre de bouillon prélevé dans différents hôpitaux de Paris, ou préparé par nous à feu nu ou au bain-marie avec de l'eau distillée et sans addition de légumes, ou bien achetés encore sur le marché de Paris. Quant aux bouillons concentrés et extraits de viande, nous les avons dilués comme précédemment pour la recherche du glucose.

II. — *Action de la phénylhydrazine sur les bouillons et sur les solutions d'extrait de viande.*

La plupart des sucres sont caractérisés : 1° par leur pouvoir rotatoire; 2° par leur pouvoir réducteur; 3° par leur osazone. C'est par l'obtention de cette dernière surtout que nous avons essayé de caractériser le ou les corps réducteurs qui existent normalement dans les bouillons de ménage et dans certains extraits de viande.

pour éviter la formation de grumeaux. 220 gr. d'oxyde rouge de mercure. Au bout de 5 à 6 minutes d'agitation, ajouter 160 cm³ d'eau distillée et porter à l'ébullition.
Après dissolution complète de l'oxyde, laisser refroidir et verser en filet mince 40 cm³ de lessive de soude (36°B) au quart. Agiter, compléter le volume à un litre avec de l'eau distillée, et filtrer.

Voici la technique que nous avons suivie en opérant sur un litre de bouillon, ou sur 500 cm³ de solution d'extrait de viande.

Dans une fiole d'Ernelmayer, verser 500 cm³ de solution précédemment obtenue, déféquée au réactif de Patein et Dufau [1], puis ajouter 25 cm³ de phénylhydrazine pure, 37 cm³ 5 d'acide acétique cristallisable et 25 cm³ d'une solution d'acétate de soude à 25 °/₀. Mélanger le tout et chauffer au B.-M. bouillant pendant une heure au moins.

Nous n'avons obtenu d'osazone qu'avec un seul échantillon d'extrait de viande examiné, caractérisé déjà par une réduction à la liqueur de Fehling après défécation au nitrate mercurique. Cette osazone, au microscope, présente la forme unique en longs cristaux flexueux chevelus, réunis autour d'un point central, décrits par M. Grimbert dans le liquide céphalo-rachidien et que nous avons rencontrés récemment dans le liquide spermatique d'individu normal. L'osazone ainsi obtenue a été recueillie sur un petit filtre Schleicher sans plis, lavée légèrement à l'eau froide et traitée par l'acétone au demi. La partie insoluble dans l'acétone au demi, purifiée au benzène après dessiccation dans le vide sulfurique, a donné comme point de fusion au bloc de Maquenne, par la méthode de fusion instantanée de Bertrand, 230°-232°. En la redissolvant dans une petite quantité d'alcool à 60° chaud, nous avons obtenu par refroidissement des cristaux caractéristiques en branches de genêt de phénylglucosazone. La partie soluble dans l'acétone nous a donné par évaporation lente de cette dernière à l'air libre, ou, dans le vide sulfurique, un résidu ne présentant aucune forme cristalline au microscope et formé uniquement de gouttelettes goudronneuses entièrement solubles dans la benzine.

De tous ces faits, nous pouvons conclure nettement à la présence de glucose dans l'extrait de viande analysé, et caractérisé par la formation de phénylglucosazone fondant à 230°-232°.

L'osazone obtenue dans les mêmes conditions avec les bouillons de ménage, présente au microscope deux formes bien distinctes, l'une en branches de genêts, caractéristique du glucose, l'autre moins bien définie.

Nous avons recueilli cette osazone sur un petit filtre sans plis,

1. Patein et Dufau. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1899 [6], 10 : 433.

nous l'avons lavée à l'eau froide et traitée comme précédemment par l'acétone au demi.

Après dessiccation dans le vide sulfurique et à l'obscurité, la partie de l'osazone insoluble dans l'acétone au demi et dans l'alcool méthylique a été purifiée par un lavage prolongé à la benzine jusqu'à ce que celle-ci passe complètement incolore. Desséchée ensuite à l'étuve à 35°, cette osazone a donné comme point de fusion, par la méthode de fusion instantanée de Bertrand, 230°-232°, correspondant exactement à celui de la phénylglucosazone.

La partie de l'osazone soluble dans l'acétone au demi a été examinée après évaporation lente à l'air de la solution acétonique, et présentait au microscope deux formes tout à fait différentes. Cette nouvelle osazone, desséchée comme précédemment, purifiée à la benzine, a donné comme point de fusion, par la méthode de Bertrand, 210°-214°. Reprise par de l'eau très chaude (température de l'eau placée au B.-M.), nous avons obtenu encore deux osazones : 1° de la phénylglucosazone fondant à 230°-232°, insoluble dans l'eau portée à la température du B.-M. ; 2° une deuxième osazone, laquelle, après une nouvelle purification, fondait exactement au bloc de Maquenne à 128°-130°.

L'examen de plusieurs bouillons nous a donné les mêmes résultats : nous avons toujours trouvé de la phénylglucosazone fondant à 230°-232° et une deuxième combinaison hydrazinique fondant entre 128° et 130° et dont la quantité variait avec la richesse des bouillons examinés.

III. — *Caractérisation de l'acide glycuronique dans la viande musculaire.*

Il existe donc à côté de glucose dont la présence est généralement admise dans les préparations de viande et que nous avons caractérisé par son osazone fondant entre 230°-232°, un autre corps réducteur capable de se combiner avec la phénylhydrazine pour donner une nouvelle osazone fondant vers 130°.

A. — HISTORIQUE

Cramer [1] et Panormoff [2] avaient déjà montré que le glycogène était dédoublé dans les muscles.

D'après Cl. Bernard et Trichonowitsch [3], il ne se formerait au contraire aucun sucre dans les muscles.

Selon Meissener [4], il y aurait une espèce particulière de sucre dans les muscles qui peut fermenter, mais qui se distingue du glucose par une solubilité plus faible dans l'alcool.

Ranke [5] confirme l'indication, que dans l'extrait aqueux de muscle frais, il existe une substance capable de fermenter.

Pavie [6] a extrait des muscles au moyen de l'alcool une substance dont la capacité réductrice était doublée par l'action de l'acide sulfurique et qu'il croit être du maltose.

Panormoff [7] serait de l'avis de Pavie ; en se servant de phénylhydrazine et séparant par l'eau chaude la maltosazone de la glucosazone, il a obtenu un point de fusion de 184°. En opérant sur des muscles de lamproie, il a obtenu une autre osazone fondant à 153°-155°. La présence du glucose dans les muscles proviendrait d'après lui du glycogène qui subirait une sorte de fermentation.

Panormoff termine en disant qu'avec le glycogène et le dextrose dans les muscles, il se forme une autre substance qu'il n'a pas pu caractériser.

Pickardt [8], Otto [9], Pavy et Siau [10] se sont occupés successivement de la recherche du sucre dans le sang des animaux. Pavy et Siau y admettent la présence d'isomaltose dont le point de fusion de l'isomaltosazone serait de 157°-158°.

P. Mayer [11] a également isolé une osazone fondant à 159°-164° en opérant sur du sang de bœuf désalbuminé, et qu'il considère comme provenant de l'acide glycuronique.

1. Cramer. *Zeitschrift für Biologie*, 1887, 24.
2. Panormoff. *Beilagen zu den Protokollen der Sitzungen der naturforschenden Gesellschaft der Universität Kasan*, n° 119.
3. Trichonowitsch. *Source de la formation des hydrates de carbone*, Charkow, 1866.
4. Meissener. *Nouvelles de l'Université de Göttingen*, 1861 et 1862.
5. Ranke. *Tétanus*, Leipzig, 1865, 170.
6. Pavie. *Lancet*, 1881, **11** : 5-43.
7. Panormoff. Sur le sucre des muscles. *Zeitschrift f. physiol. Chemie*, 1892-93, **17** : 596-606.
8. Pickardt. *Zeitschrift f. physiol. Chemie*, 1892, **17** : 217.
9. Otto, *Pflügers Archiv*, 1885, 35.
10. Pavy et Siau. *Journal of Physiology*, 1901, **26** : 3-4.
11. P. Mayer. *Zeitschr. f. physiol. Chemie*, 1901, **32** : 518.

Van Leers[1] a signalé ce dernier corps dans la bile de bœuf; Blumenthal a trouvé des pentoses dans le foie et dans les muscles.

D'après MM. Morel et Fraisse[2], la présence de l'acide glycuronique dans le sang de bœuf n'est pas démontrée, mais seulement supposée.

Les conclusions de M. Fraisse[3] : *Sur la teneur en pentoses et acide glycuronique des organes des mammifères domestiques* sont les suivantes :

1° Il existe dans les organes des mammifères domestiques des substances normales donnant naissance à du furfurol quand on les distille avec de l'acide chlorhydrique de 1,06;

2° Parmi ces substances, il est probable que se trouve l'acide glycuronique libre ou combiné;

3° Pour être fixé sur la nature de ces substances, la technique de Tollens ne suffit pas, il faudrait les isoler à l'état d'hydrazones;

4° L'abondance de ces substances va en décroissant du mouton au bœuf, cheval, veau.

B. — GLYCUROSAZONE

Les travaux cités précédemment et l'isolement d'une combinaison hydrazinique dans les bouillons fondant vers 130° au bloc de Maquenne, par la méthode de fusion instantanée de Bertrand, nous ont conduit à faire les expériences suivantes, dans le but de rechercher l'origine et la nature de cette combinaison.

Expérience I. — 250 gr. de viande maigre de bœuf, finement hachée et débarrassée des tendons, sont mis à macérer dans 500 cm³ d'eau distillée pendant six heures et traités ensuite pendant vingt minutes au B.-M. Passer avec expression et déféquer au réactif de Patein et Dufau. Après traitement par la phénylhydrazine, acide acétique et acétate de soude, l'osazone formée au B.-M. présentait au microscope plusieurs formes, mais sans caractères bien distinctifs. Cette osazone a été recueillie sur un petit filtre sans plis selon la technique déjà employée, lavée à l'eau distillée froide, puis à l'acétone au demi.

La partie insoluble dans l'acétone au demi, desséchée dans le vide sulfurique et à l'obscurité, purifiée ensuite à la benzine, a donné comme point de fusion instantanée, par la méthode de Bertrand, 230°-232°, ce qui nous conduit à admettre la présence de glucose

1. Van Leers. *Beiträge chem. Phys. und Path.*, **3** : 522.
2. Morel et Fraisse. *Bulletin Soc. chimique.* 1907 [4] **1** : 659.
3. H. Fraisse. 1907, *Thèse de Lyon* (pharmacie).

(caractérisé par le point de fusion de son osazone) dans la viande musculaire.

Par évaporation de la solution acétonique à l'air libre, nous avons obtenu une osazone brute fondant à 196°-198° que nous avons séparée par l'eau bouillante en glucosazone (point de fusion, 230°-232°) et en une osazone formée de petits cristaux en rosaces (fig. *a*) et dont le point

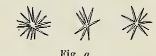


Fig. *a*.

de fusion était de 137°-138°, descendant à 128°-130° après une nouvelle purification.

Plusieurs bouillons préparés avec les mêmes quantités de viande et d'eau distillée, soit au bain-marie, soit à feu nu, nous ont toujours donné les mêmes résultats.

Expérience II. — Nous avons répété exactement la même expérience sur une macération de viande de six heures préparée avec les mêmes quantités de viande et d'eau distillée, mais à froid. Nous avons encore obtenu deux osazones, l'une fondant à 230°-232° et insoluble dans l'acétone au demi, c'est-à-dire de la phénylglucosazone, l'autre soluble dans l'acétone et donnant après évaporation et dessiccation un point de fusion brut de 196°-198°. En opérant comme précédemment pour la purification de cette dernière, nous avons obtenu de la glucosazone et une osazone toujours formée de petits cristaux en rosaces (fig. *b*) et dont le point de fusion après dessiccation dans le vide sulfu-

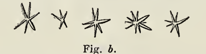


Fig. *b*.

rique était de 137°-138°, descendant à 130° après une nouvelle purification.

La même expérience répétée plusieurs fois nous a toujours donné cette dernière osazone avec un point de fusion variant de 128° à 138°, selon le degré de purification qu'on lui fait subir.

Expérience III. — Cette troisième expérience a été faite dans le but de savoir si réellement la substance qui vient d'être caractérisée par son osazone fondant à 137°-138° ou à 128°-130° après purification, existait toute formée dans la viande musculaire, ou bien si elle prenait naissance, sous l'influence d'une macération de six heures, suivie ou non suivie de chauffe.

A cet effet, nous avons pris 350 gr. de viande maigre, finement hachée, nous l'avons délayée dans 500 cm³ d'eau distillée froide. Passer rapidement et exprimer. En suivant ensuite la technique pré-

cédente, nous avons obtenu une osazone qui ne s'est formée que par refroidissement et qui présentait des cristaux en rosaces, comme dans les expériences précédentes, ou en forme d'épis réunis en étoile.

Après traitement par l'acétone et purification par l'eau chaude, presque bouillante, nous avons obtenu de la phénylglucosazone et une osazone brute fondant vers 198°-199°, comme dans les expériences précédentes. Cette dernière, purifiée à nouveau, nous a donné successivement un point de fusion de 149°-151°, descendant à 128°-130° après nouvelle purification. Cette osazone fondant à 128°-130° présentait au microscope la forme de petites rosaces, formées d'aiguilles très effilées comme le montre la figure *c*.

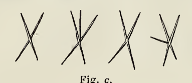


Fig. *c*.

Nous avons fait la même expérience avec la même quantité de viande. Après défécation et enlèvement de l'excès de mercure, nous avons obtenu au polarimètre, contrairement à notre attente, une déviation à gauche de — 10′; le liquide réduisait la liqueur de Fehling.

Tout récemment, MM. L. Grimbert et R. Bernier[1] ont isolé dans l'urine humaine une osazone fondant vers 130° qu'ils ont identifiée avec l'osazone de l'acide glycuronique. Nous pouvons admettre, à l'exemple de ces auteurs, que l'osazone que nous avons isolée dans les bouillons de ménage et dans la viande musculaire, et fondant de 128° à 137° selon le degré de purification qu'on lui fait subir, est due à l'acide glycuronique, qui peut donner à la façon du glucose une combinaison cristallisée avec la phénylhydrazine d'après le mécanisme suivant, la fonction aldéhydique étant libre :

$$CO^2H[CH(OH)]^3 - CH(OH) - CHO + 2NH^2 - NH - C^6H^5 =$$
$$2H^2O + 2H + CO^2H - [CH(OH)]^3 - \underset{\underset{\displaystyle N - NH - C^6H^5}{\|}}{C} - CH = N - NH - C^6H^5$$

Nous nous sommes demandé, dès lors, si cette dernière ne provenait pas de l'acide glycuronique signalé dans le sang de bœuf. A cet effet, le sang provenant du même animal que la viande employée dans les expériences précédentes, a été reçu immédia-

1. L. Grimbert et R. Bernier. *Comptes rendus Soc. Biologie*, 1909, **66** : 1020; 1909, **67** : 467.

tement à la sortie de la veine dans un flacon d'un litre stérilisé contenant 2 gr. de fluorure de sodium. Centrifuger ensuite ce sang pour recueillir le sérum. Ce dernier, déféqué au réactif de Patein et Dufau, n'a donné qu'une seule espèce d'osazone insoluble dans l'acétone et dans l'alcool méthylique et formée uniquement de phénylglucosazone caractérisée par son point de fusion net de 230°-232° au bloc de Maquenne par la méthode de fusion instantanée de Bertrand.

De cela on ne peut pas conclure que l'acide glycuronique n'existe pas dans le sang de bœuf, mais, s'il existe, ce qui est fort contredit, ce serait en très faible quantité et à l'état de conjugués glycuroniques.

De ces faits, que faut-il déduire? C'est que les muscles contiennent en dehors du glucose qui se forme très probablement après la mort de l'animal, une autre substance réductrice à laquelle des noms différents ont été donnés. Certains auteurs l'ont appelée maltose soi-disant caractérisé par le point de fusion de 198°-199° de la maltosazone. Nous avons vu, dans le courant de nos expériences, que cette prétendue maltosazone n'est autre qu'un mélange de phénylglucosazone et de l'osazone de l'acide glycuronique. D'autres auteurs l'ont appelée isomaltose, par analogie avec l'isomaltose signalé dans le sang par Pavy et Siau, discuté par P. Mayer et dont le point de fusion de l'isomaltosazone serait, d'après les uns, de 151°, d'après les autres, 157°-159°, et qui n'est autre que l'osazone impure de l'acide glycuronique que H. Fraisse avait soupçonnée dans les organes des mammifères. Ce dernier croit en la présence dans ces organes de substances (pentoses, acide glycuronique) donnant du furfurol quand on les traite par de l'acide sulfurique, mais qu'il n'avait pu caractériser par la formation de leurs osazones.

Il n'est donc pas téméraire d'admettre la présence dans la viande musculaire d'acide glycuronique caractérisé par son osazone nettement définie et qui présente toutes les propriétés de l'osazone de l'acide glycuronique obtenue par MM. L. Grimbert et R. Bernier dans l'étude critique de la réaction de Cammidge.

IV. — *Origine du glucose contenu dans les bouillons et extraits de viande.*

Quelle est l'origine du glucose existant dans les bouillons et autres préparations similaires? Faut-il admettre la théorie de Kemmerich, d'après laquelle la formation du sucre dans l'extrait de viande se ferait sous l'influence de l'acide lactique et des phosphates acides sur le glycogène? Cette transformation serait très lente, car autrement, dit-il, il n'y aurait plus de glycogène, surtout après plusieurs heures de cuisson, soit au B.-M., soit à la vapeur. Cette théorie nous paraît très discutable; car c'est dans les extraits de viande où l'acidité est la plus forte et où il se trouve le plus de glycogène qu'on devrait trouver le maximum de glucose; or, il n'en est rien, ce corps n'existant que très rarement dans les extraits.

Nous avons pensé également à l'action d'une diastase telle que l'amylase qui existerait, soit dans les tissus, soit dans le sang qui les imprègnent, et qui agirait sur le glycogène en le transformant en maltose, lequel serait ensuite dédoublé par une autre diastase telle que la maltase qui existe dans le sang animal ou par les acides de la viande, acide lactique, etc., au moment de la cuisson. Nous avons été conduit à faire cette dernière supposition, croyant à la présence du maltose dans les muscles.

Nous avons pris une certaine quantité de viande maigre, nous l'avons laissée macérer dans l'eau pendant six heures, passée avec expression, déféquée ensuite au réactif de Patein et Dufau, neutralisée, puis nous avons enlevé l'excès de mercure par le zinc et filtré à nouveau. Par addition de phénylhydrazine, d'acide acétique cristallisable et d'acétate de soude, nous avons obtenu, après une heure de B.-M., quelques cristaux jaunes surnageant dans le liquide et un dépôt cristallin assez abondant par refroidissement. Nous avons alors recueilli cette combinaison cristallisée sur un filtre sans plis, nous l'avons lavée à l'eau et traitée par l'acétone au demi. La partie insoluble dans l'acétone a donné comme point de fusion, par la méthode de Bertrand, 230°-232°, correspondant à celui de la glucosazone.

La solution acétonique abandonnée à l'air libre a fourni au bout de vingt-quatre heures une cristallisation assez abondante, formée de deux variétés de cristaux, les uns petits, étoilés, les

autres étoilés également, mais à lames beaucoup plus larges. Recueillis sur un filtre sans plis, desséchés dans le vide, purifiés au benzène, desséchés à nouveau, leur point de fusion était de 198°-199°. Nous avons vu précédemment que l'osazone ainsi obtenue est une osazone impure, qu'elle est formée de deux osazones, l'une fondant à 230°-232°, c'est-à-dire la glucosazone, l'autre fondant vers 128°-130°, la glycurosazone. Cependant l'obtention du point de fusion 198°-199° de cette osazone mixte semblait à première vue confirmer l'opinion des auteurs qui admettent la présence de maltose dans les muscles. De plus, si on admet cette hypothèse, il serait à première vue logique de faire dériver le glucose existant dans les bouillons de ménage du maltose des muscles, lequel serait ensuite hydrolysé pendant la cuisson de la viande sous l'influence de l'acide lactique du tissu musculaire. Cette opinion cependant est très discutable. Nous avons pris du maltose dont la pureté a été vérifiée par la forme cristalline en grandes rosaces de la maltosazone, par la solubilité de cette dernière dans l'acétone au demi et par son point de fusion de 198°-200° (fusion instantanée de Bertrand). Ce maltose a été ensuite hydrolysé pendant une demi-heure au moins à l'ébullition par la quantité d'acide lactique correspondant à l'acidité des bouillons de viande. Nous avons ainsi obtenu une osazone complètement soluble dans l'acétone au demi. Cette dernière, évaporée, nous a donné des cristaux de maltosazone, avec de très rares cristaux en forme de branches de genêts. Le point de fusion de l'osazone ainsi obtenue était de 200° après traitement et purification à la benzine. Il n'y avait donc pas eu hydrolyse rapide par l'acide lactique, ou, en tout cas, hydrolyse très faible.

Si nous admettons les phénomènes de glycolyse du sucre dans le sang, aussitôt après sa sortie des veines, sans le recevoir préalablement dans une solution de fluorure de sodium, il est impossible d'attribuer la présence du glucose dans les bouillons au glucose du sang. Il en est certainement ainsi pour de la viande de bœuf abattue depuis vingt-quatre ou quarante-huit heures et même plus. Il est plus simple et plus rationnel d'admettre, comme MM. Cadéac et Maignon[1], que le muscle, absolument comme le foie, produit du glucose après la mort et sans

1. Cadéac et Maignon. De la production du glucose par les muscles. *Comptes rendus Acad. des Sciences*, 1902, 134:1443.

doute par un phénomène diastasique. Ces deux auteurs ont fait des bouillons, les ont déféqués et ont fait ensuite des dosages à la liqueur de FEHLING. Leurs conclusions sont les suivantes :

1° Les muscles plongés dans l'huile à 37° produisent davantage de glucose à température égale que les muscles exposés à l'air;

2° Les muscles entourés de glace élaborent le minimum de sucre;

3° Les muscles écrasés ou comprimés élaborent le maximum de sucre et la quantité de sucre produit dépasse celle des muscles plongés dans l'huile;

4° Cette fonction du muscle est indépendante de toute putréfaction.

Ces conclusions paraissent tout à fait en harmonie avec nos expériences précédentes, où l'action contondante opérée sur la viande, au lieu de diminuer ou de supprimer la genèse du sucre, l'excite au contraire, selon l'expression même de MM. CADÉAC et MAIGNON.

Ces derniers ont également montré[1] que le cœur est l'organe de l'économie qui produit le plus de sucre après le foie, les muscles lisses n'en produisant qu'une faible quantité après un temps prolongé.

Nous ne dirons rien des travaux de MM. CADÉAC et MAIGNON, qui semblent bien démontrer l'origine du glucose dans les muscles et par suite dans les bouillons. Il est regrettable cependant que les auteurs en question n'aient pas essayé de caractériser le sucre réducteur? qu'ils se sont contenté de doser à la liqueur de FEHLING après défécation et qui n'est pas formé d'une substance réductrice unique, comme nous l'avons vu précédemment.

V. — *Origine de l'acide glycuronique.*

Nous savons que le glucose peut donner parmi ses produits d'oxydation soit de l'acide gluconique, soit de l'acide glycuronique. Dans ce dernier cas, l'oxygène se fixe sur le groupement opposé à la fonction aldéhydique, c'est-à-dire sur la fonction

1. CADÉAC et MAIGNON. Etude comparative de l'activité productrice du glucose par les muscles striés, le myocarde et les muscles lisses. *Comptes rendus Acad. des Sciences*, 1903, **136**:120.

alcool primaire, pour transformer cette dernière en fonction acide et donner ainsi l'acide glycuronique.

Cet acide glycuronique provient-il du glycogène contenu dans le tissu musculaire? ou bien faut-il le regarder comme un produit d'oxydation directe du glucose?

Cette dernière opinion est celle de SCHMIEDEBERG et MEYER[1], de P. MAYER, de FISCHER et PILOTY[2].

Il est très vraisemblable que l'acide glycuronique contenu dans la viande musculaire et dans certaines préparations qui en dérivent (bouillons) provient d'un phénomène d'oxydation spéciale du glucose. Nous avons vu en effet que cet acide glycuronique isolé par nous à l'état de glycurosazone dans les muscles de bœuf et dans les bouillons y est toujours accompagné d'une certaine quantité de glucose.

Comment se ferait alors cette oxydation du glucose? Telle est la question qu'un certain nombre d'auteurs ont déjà cherché à résoudre. Mais, de même que l'origine de l'acide glycuronique dans l'urine est encore incomplètement expliquée[3], de même nous ne pouvons formuler que des hypothèses sur l'origine de l'acide glycuronique dans les muscles.

1. SCHMIEDEBERG et MEYER. *Zeit. phys. Chem.*, 1879, **3**:422.
2. FISCHER et PILOTY. *Ber. chem. Ges.*, 1891, **24**:521.
3. R. BERNIER. Sur la présence de l'acide glycuronique et de certains hydrates de carbone dans l'urine normale, *Thèse pharm.*, Paris, 1910.

TROISIÈME PARTIE

MÉTHODES DE DOSAGE EMPLOYÉES DANS L'ESSAI DES BOUILLONS ET EXTRAITS DE VIANDE

Dans une étude suffisamment complète des bouillons et des extraits de viande, il est nécessaire de déterminer le poids de chacun des éléments qui entrent dans ces préparations.

Liebig avait déjà dit qu'un bon extrait de viande devait contenir :

1° Ni albumine, ni graisses;

2° Pas plus de 20 °/$_0$ d'eau;

3° Environ 60 °/$_0$ de matières solubles dans l'alcool à 80°;

4° 8,5 à 9,5 °/$_0$ d'azote;

5° 15 à 25 °/$_0$ de cendres.

La divergence des résultats obtenus par de nombreux chimistes vient surtout de la complication, de la diversité et de la défectuosité de leurs méthodes.

Si l'on se rapporte aux analyses faites avant 1880, on voit que l'essai des extraits de viande se bornait à la détermination de l'eau, des cendres, des matières organiques, de l'azote total, de l'extrait aqueux et de l'extrait alcoolique. Les analyses publiées ensuite ne furent supérieures aux précédentes que par l'énumération et le dosage souvent fantaisiste de certains éléments mal définis ou difficiles à doser, tels que la carnine, taurine, inosite, acide inosique et acide succinique; mais on n'y trouve aucune indication sur les méthodes employées. De là l'idée de donner une marche d'analyse simple en même temps que pratique et

avec des procédés aussi exacts que possible pour l'essai des bouillons et des préparations similaires.

Nous avons opéré directement sur les échantillons de bouillons pris dans le commerce. Quant aux bouillons des hôpitaux, ils ont été dégraissés après refroidissement par une filtration préalable au papier. Les bouillons concentrés semi-liquides ont été dilués avec de l'eau distillée en tenant compte de cette dilution dans le dosage.

Pour les extraits pâteux ou solides, nous avons dissous l'échantillon entier dans de l'eau distillée chaude; laissé refroidir et complété ensuite dans un ballon gradué à un volume déterminé avec de l'eau distillée froide, de façon à obtenir une solution contenant environ 4 à 5 °/o d'extrait de viande. Un essai préalable nous a montré que tous les échantillons étaient complètement solubles dans l'eau chaude. Dans le cas d'un échantillon incomplètement soluble, il suffirait de doser l'azote et les cendres de la partie insoluble.

Cette méthode consistant à prendre l'échantillon entier est à notre avis la meilleure, les extraits de viande étant des produits souvent non homogènes.

La marche suivie pour l'analyse des bouillons et extraits de viande est la suivante, détermination de : 1° la densité; 2° acidité; 3° extrait sec; 4° eau; 5° cendres; 6° chlorure de sodium; 7° matières organiques; 8° azote total; 9° azote ammoniacal; 10° azote xanthique; 11° créatine et créatinine; 12° matières grasses; 13° glucose, etc.

L'azote de la gélatine et des autres matières azotées non dosées a été obtenu par différence.

I. — *Densité à + 15°.*

La densité des bouillons varie avec la quantité de viande employée pour leur fabrication, c'est-à-dire suivant leur concentration. Cette densité est ordinairement comprise entre 1.012 et 1.014 dans les excellents bouillons, et peut tomber jusqu'à 1.007 (bouillon d'os, par exemple). Le bouillon de la Compagnie hollandaise et celui du Val-de-Grâce, examinés par Chevreul[1], avaient une densité, le premier de 1.012, le second

1. Chevreul. Examen d'un excellent bouillon, *N. Ann. Mus. Hist. nat.*, 1832:308 (note 2).

de 1.011. Un excellent bouillon, préparé avec la quantité de viande maigre suffisante doit, d'après CHEVREUL, avoir une densité de 1.013,6 environ. M. BARILLÉ a préparé un bouillon militaire ayant une densité de 1.017, avec une teneur en azote total de 1 gr. 20 par litre.

Cette densité est déterminée à 15°, soit par la méthode du flacon, qui est la plus exacte, ou plus simplement au moyen du densimètre, en notant la température du liquide, et ramenant à 15°, ou, par la balance de MOHR.

II. — *Acidité.*

Tous les bouillons et extraits de viande ont une réaction franchement acide dont l'origine est très discutée.

L'acidité du bouillon, dit CHEVREUL, est probablement due à l'acide lactique, qui donne la saveur caractéristique du bouillon, et aussi très probablement à l'acide phosphorique, qui existerait partie à l'état libre, partie à l'état de « superphosphates »!!!

D'après d'autres auteurs, l'acidité des bouillons de ménage viendrait de l'acide inosique, du phosphate acide de potasse surtout, et aussi également de la présence d'un peu d'acide paralactique, d'acides acétique et butyrique.

Suivant KLIMENKO[1], l'acide prédominant de l'extrait de viande serait l'acide paralactique, qu'il a isolé à l'état de sel de zinc et caractérisé ensuite par son pouvoir rotatoire.

Le caractère de l'acidité des bouillons et extraits de viande n'a jamais été démontré d'une façon parfaite, les uns l'attribuent à l'acide lactique. ROTH et LEX[2] en ont trouvé une quantité égale à 3 °/₀ dans l'extrait de LIEBIG. M. A. GAUTIER[3] a trouvé dans son bouillon alimentaire 0 gr. 20 d'acide lactique par litre.

La plupart des chimistes attribuent la haute acidité des bouillons et des extraits de viande à ce dernier acide, mais aussi et surtout aux phosphates acides, l'acidité totale variant, d'après eux, avec la quantité d'acide phosphorique dosé. Donc, c'est à l'acide lactique et aux phosphates acides principalement, selon les meilleurs auteurs, que serait due l'acidité des bouillons

1. KLIMENKO. Extrait de bouillon, *Journ. de Pharm. et des sc. acc.*, 1881 [5], 3:37.
2. *Documents sur les falsifications des matières alimentaires et sur les travaux du Laboratoire municipal*, Paris, 1885, p. 676.
3. A. GAUTIER. *Loc. cit.*

et surtout des extraits de viande; c'est pourquoi nous avons exprimé nos résultats en acide phosphorique.

On a signalé, en dehors de l'acide phosphorique et de l'acide lactique, un peu d'acide succinique, découvert par WEIDEL[1], et qui n'avait pas encore été signalé dans les extraits de viande. SALKOWSKI[2], puis KUTSCHER et STEUDEL[3] déclarent avoir trouvé de l'acide succinique dans les extraits préparés avec des viandes faisandées. SIEGFRIED[4] objecte que le procédé employé par KUTSCHER et STEUDEL est défectueux et nie la présence de ce corps dans les extraits de viande.

Certains auteurs ont également trouvé de l'acide inosique; c'est ainsi que KARMRODT[5] signale dans la substance organique de l'extrait de viande 47,03 °/o d'acide inosique, créatinine et sarcosine.

M. A. GAUTIER[6] a trouvé 0,04 centigr. d'acide inosique dans le bouillon alimentaire qu'il a préparé lui-même.

On a signalé également, de l'aveu même des fabricants[7], l'introduction d'acides de fruits dans quelques extraits de viande par l'emploi de jus d'ananas ajouté pendant la préparation (Ex. Mosquera Beef Extract, de PARKE, DAVIS and C°).

De ce qui précède, il s'ensuit que l'acidité des bouillons et extraits de viande peut être attribuée à différents corps, plus ou moins acides, qui peuvent exister d'une façon normale ou accidentelle dans ces divers produits. La plupart des anciens chimistes titraient directement l'acidité des extraits de viande avec de la potasse décinormale en présence de tournesol comme indicateur.

D'après BALLAND[8], l'acidité des extraits de viande varierait de 4 gr. 10 à 5 gr. 20 °/o en acide sulfurique monohydraté.

M. BARILLÉ[9] prend l'acidité en neutralisant directement les bouillons par de la soude décinormale en présence de phtaléine comme indicateur.

J.-G. GIRARD[10] opère aussi directement sur 10 cm³ de bouillon

1. WEIDEL. *Liebig's Annalen*, 1871, **158**:353.
2. SALKOWSKI. *Zts. klin. Med.*, 1890, suppl. au vol. XVII, p. 77.
3. KUTSCHER et STEUDEL. *Zts. physiol. Chem.*, 1903, **38**:101.
4. SIEGFRIED. *Zts. physiol. Chem.*, 1903, **39**:126.
5. *Chemie der menslichen Nahrungs und Genussmittel*, 1904, **2**:555.
6. A. GAUTIER. *Loc. cit.*
7. U. S. Department of Agriculture. Bureau of Chemistry, *Bull.* n° 114:11-12.
8. BALLAND. *Rev. intern. fals.*, 1891, **5** : 139.
9. BARILLÉ. *Loc. cit.*
10. J. G. GIRARD. *Thèse de pharmacie*, Toulouse, 1903.

avec une solution décinormale de soude en présence de phtaléine du phénol.

La méthode officielle employée à Washington consiste à ajouter au bouillon ou solution diluée d'extrait de viande de la soude décinormale jusqu'à réaction neutre au papier de tournesol.

Toutes ces méthodes ont l'inconvénient commun de titrer l'acidité dans une solution colorée, malgré leur dilution. De plus, si l'on admet la présence de phosphate mono et bi-métalliques, de phosphates mono et bi-potassiques, par exemple, comme l'admettent la plupart des chimistes, la méthode de saturation directe en présence de phtaléine du phénol ou de tournesol ne représente qu'une partie de l'acidité totale et réelle de ces préparations. Une méthode qui semble donner des résultats suffisamment exacts est celle de Maly, modifiée par Denigès-Lapierre.

Méthode employée (Maly-Dennigès). — Cette méthode consiste à traiter les bouillons ou les solutions d'extrait de viande par une quantité connue de soude, puis par une solution de chlorure de baryum, de manière à précipiter à l'état de phosphate de baryte insoluble tous les phosphates, principalement les phosphates acides alcalins, déjà transformés par la soude en phosphates basiques. Titrer ensuite l'excès de soude avec de l'acide sulfurique décinormal. On a ainsi la quantité qui a été nécessaire pour saturer les acides libres, et pour faire passer les phosphates mono ou bi-métalliques à l'état de phosphates tribasiques.

Cette méthode nous a toujours donné un résultat supérieur à la méthode de titrage par retour et bien supérieur encore à la méthode par titrage direct.

Technique. — Nous nous sommes servi des réactifs suivants :

1° Une solution décinormale de soude ;

2° Une solution décinormale d'acide sulfurique ;

3° Une solution de chlorure de baryum à 10 °/₀ ;

4° Une solution de phénol-phtaléine à 2 °/₀ dans l'alcool à 60°.

Dans une fiole jaugée de 100 cm³, verser successivement : 20 cm³ de bouillon ou de solution d'extrait de viande à 3 ou 4 °/₀, 20 cm³ de solution décinormale de soude ; 10 cm³ de solution de chlorure de baryum, et on achève de remplir la fiole jusqu'au

trait de jauge de 100 cm³; on agite et on filtre. A 50 cm³ du liquide filtré correspondant à 10 cm³ de bouillon ou de solution d'extrait, ajouter 10 cm³ de solution décinormale d'acide sulfurique, puis quelques gouttes de la solution de phénolphtaléine, et titrer l'excès d'acide sulfurique, à l'aide de la solution décinormale de soude.

Soit n, le nombre de centimètres cubes de soude employés; $n \times 100$ indique la quantité de soude décinormale nécessaire pour saturer 1 litre de bouillon ou de solution d'extraits de viande. Tenir compte de la dilution des extraits dans le calcul final.

Chaque centimètre cube de soude décinormale représente :

0 gr. 0049	d'acide	sulfurique;
0 gr. 009	—	lactique;
0 gr. 00326	—	phosphorique.

Si nous nous reportons à notre tableau d'analyse des bouillons et extraits de viande (p. 99), nous voyons que l'acidité des bouillons ordinaires exprimée en acide phosphorique est extrêmement variable, et qu'elle augmente avec la richesse de ces bouillons. Cette acidité est ordinairement comprise entre 0 gr. 70 et 1 gr. 50 par litre. L'acidité des extraits de viande peut atteindre jusqu'à 5 °/₀ et même plus en acide phosphorique.

III. — *Extrait sec.*

La quantité de résidu fixe, ou extrait sec d'un bouillon, varie normalement, selon M. A. Gautier, de 15 à 23 gr. par litre. Elle est en moyenne de 20 à 23 gr. dans les bouillons les mieux préparés et peut descendre jusqu'à 12 gr. dans les bouillons pauvres tels que les bouillons d'os. Cette quantité est extrêmement variable, car elle dépend principalement de la quantité de sel de cuisine ajouté.

D'après Liebig, un bon extrait de viande doit contenir au moins 79 °/₀ de matières fixes.

Le Committee on Food Standards of the Association of Official agricultural Chemists des Etats-Unis[1] exige une quantité minimum de 75 °/₀ de matières solides totales pour les extraits de viande, dont pas plus de 27 °/₀ de cendres et pas plus de 17 °/₀ de chlorure de sodium.

1. U. S. Department of Agriculture. Bureau of Chemistry. *Bull.*, nº 114 ; 12.

Méthode de dosage employée. — La détermination de l'extrait sec s'opère en faisant évaporer un volume connu de bouillon filtré, dégraissé, ou encore un volume de bouillon concentré ou d'une solution d'extrait de viande à 4 °/ₒ environ, suivi d'une dessiccation à 100°-105°. Si le produit n'était que partiellement soluble dans l'eau, il faudrait prendre une partie aliquote du produit préalablement mélangé.

Dans l'analyse des bouillons ou des extraits de viande, nous n'aurons pas à craindre, comme dans l'analyse des urines, les pertes dues à l'action des phosphates acides sur l'urée, ce dernier corps n'existant pas dans les bouillons et extraits de viande. Nous avons considéré comme négligeable la perte occasionnée par l'action de ces mêmes phosphates acides, sur les autres matières azotées existant dans ces préparations.

Mode opératoire. — Prendre une capsule de platine officielle à fond plat de 0,05 sur 0,07 de diamètre, la recouvrir d'un verre de montre et faire la tare du tout, après dessiccation à l'étuve à 100° pendant une heure environ et refroidissement dans le vide.

Verser 10 cm³ de bouillon ou encore 10 cm³ de bouillon concentré dilué, ou de solution d'extrait de viande à 4 ou 5 °/ₒ environ et évaporer d'abord au B.-M. bouillant. Porter ensuite la capsule et le verre de montre dans une étuve réglée à 105° jusqu'à poids constant.

Un séjour de deux ou trois heures au maximum suffit largement pour les bouillons, tandis qu'il a fallu quelquefois quatre ou cinq heures et plus pour les extraits de viande, afin d'obtenir une dessiccation complète. La capsule et le verre de montre ont ensuite été pesés après refroidissement dans le vide.

Nous avons dit que l'extrait sec dans les bouillons pouvait varier de 15 à 23 gr., ceci est d'accord avec nos résultats. Dans les extraits de viande pâteux, la quantité d'extrait sec trouvé comme moyenne de plusieurs analyses a été de 81 gr. 63 °/ₒ; cette quantité n'a jamais été inférieure à 80 gr. ni supérieure à 83 gr. Donc, d'une façon générale, on peut dire qne le résidu sec total des extraits de viande est compris entre 80 et 83 °/ₒ.

IV. — *Matières minérales.*

D'après CHEVREUL[1], la matière minérale des bouillons serait surtout formée de sels de potasse et de soude solubles dans l'eau, de chlorures et de sulfates solubles également, de phosphates de magnésie et de chaux insolubles, avec des traces d'oxyde de cuivre.

A. STUTZER[2] a trouvé jusqu'à 10,18 °/₀ de chaux dans l'extrait de viande de LIEBIG et un peu moins dans celui de KEMMERICH.

Le Dr KÖNIG[3] nous donne un intéressant tableau de la composition des cendres des extraits de viande de KEMMERICH, de CIBILS et de LIEBIG, et les trouve formés de chaux, de potasse, de soude, de magnésie, d'oxyde de fer, d'acides phosphorique et sulfurique à l'état de sulfates et de phosphates alcalins ou alcalins terreux, de chlorures ainsi que d'un peu de silice, en quantité variable.

D'après H. BREMER, le phosphore des extraits de viande serait formé de 71,5 °/₀ de phosphore inorganique.

On a signalé également dans les cendres de bouillons jusqu'à 17,13 °/₀ de chlorure de potassium, 57,3 °/₀ de phosphate de potasse, 7 °/₀ de sulfate de potasse, 5,6 et 13 °/₀ de phosphates bi-calcique et bi-magnésique.

M. POUCHET signale dans l'extrait de viande LIEBIG 7,352 et 6,924 °/₀ de phosphates bi-potassique et disodique, 1,946 °/₀ de chlorure de sodium, 2,088 et 0,088 °/₀ de phosphates dimagnésique et dicalcique, enfin de l'alumine, de la silice et de l'oxyde de fer que nous avons retrouvés à l'état de traces dans la plupart des extraits.

M. A. GAUTIER, dans son étude sur l'extrait de viande, nous donne les chiffres relatifs aux sels solubles et insolubles dans l'eau et trouve un total de 22,39 °/₀ en moyenne.

On voit par là que la plupart des éléments minéraux composant les cendres des bouillons et extraits de viande se retrouvent dans la viande elle-même, si l'on se rapporte aux analyses de KÖNIG[4] et de JOLLY[5]. Ce dernier a montré les différentes combi-

1. CHEVREUL. *Loc. cit.*
2. A. STUTZER. *Berl. klinische Wochenschrift*, 1885, n° 15.
3. Dr KÖNIG. *Chemische der menslichen Nahrungs und Genusmittel*, 1903, **1** : 96.
4. KÖNIG. *Chemische Zusammensetzung der menslichen Nahrungs und Genussmittel*, 3e éd., 1889, **1** : 236.
5. JOLLY. *Comptes rendus*, 1879, **89** : 958.

naisons de l'acide phosphorique trouvé dans les muscles et dans les tendons de veau et de bœuf.

D'après Siegfried et Singewald [1], il y aurait un rapport constant entre la quantité d'acide phosphorique total et la quantité d'acide phosphorique organique, et ces auteurs en déduisent une méthode permettant de rechercher la valeur d'un extrait d'après le dosage du phosphore organique. D'une façon générale, on rencontre dans les extraits de viande une forte teneur en sels de potasse et acide phosphorique.

Méthode de dosage employée. — Les cendres s'obtiennent par calcination de l'extrait sec total obtenu précédemment. La plupart des auteurs conseillent de prendre 1 ou 2 gr. d'extrait, de les dessécher et calciner ensuite. Si l'extrait est complètement soluble, il est préférable d'opérer de la façon suivante :

Mode opératoire : L'extrait sec déjà obtenu est calciné au creuset ou au four à moufle, en prenant la précaution de chauffer d'abord la capsule au bord du moufle, pour éviter les projections. Il suffit ensuite de pousser peu à peu la capsule vers le milieu du four et de l'y laisser jusqu'à ce qu'il ne reste plus de résidu charbonneux. L'opération complète dure environ trois quarts d'heure. Mais comme la destruction de la matière organique s'accompagne d'une perte due à la volatilisation des chlorures, nous avons remédié à cette cause d'erreur : 1° en dosant très exactement les chlorures dans les bouillons et extraits de viande ; 2° en dissolvant le résidu obtenu précédemment dans l'acide azotique étendu et en dosant à nouveau les chlorures. La différence entre les deux dosages donne le chiffre de la perte due à la calcination ; il suffit, dès lors, de l'ajouter au poids des cendres. La quantité de chlorures restant après calcination a toujours été inférieure à 0 gr. 50 représentée en chlorure de sodium.

Un excellent bouillon, d'après Chevreul, doit contenir environ 11 °/₀ de matières minérales. On peut dire que la quantité de cendres fournie par les bouillons de bonne qualité est comprise entre 8 et 13 gr., cette limite pouvant évidemment varier suivant la quantité de chlorure de sodium ajouté.

1. Siegfried et Singewald. *Zts. Nahr. Genussm.*, 1905, **10** : 521 ; *Journ. de Pharm. et Chim.*, 1906 [6]. **23** : 500.

D'après Liebig, un bon extrait de viande doit contenir de 15 à 25 °/₀ de matières minérales. La proportion de ces dernières, trouvée dans nos analyses d'extrait, a toujours été comprise entre 20 gr. 81 et 24 gr. 17 °/₀.

V. — *Matières organiques.*

La différence entre le poids de l'extrait sec et le poids du résidu minéral nous a donné le poids des matières organiques contenues dans 10 cm^3 de bouillon ou dans 10 cm^3 de bouillon concentré ou de solution d'extrait de viande. Il suffit ensuite de ramener par le calcul au litre de bouillon ou au pourcentage d'extrait de viande.

La quantité de matières organiques contenue dans les bouillons est ordinairement comprise entre 9 et 11 gr. et diminue dans les bouillons de mauvaise qualité.

Les extraits de viande achetés sur la place de Paris contenaient en moyenne 59 gr. 09 °/₀ de matières organiques ; leur teneur a varié de 56 gr. 83 à 61 gr. 06 °/₀.

La matière organique des bouillons et extraits de viande serait principalement formée de gélatine, xanthine, d'hypoxanthine, de créatine et de créatinine, à côté de bases de viande plus ou moins bien définies telles que la carnine, découverte par Weidel [1] dans l'extrait de viande à la dose de 1 °/₀ environ et isolée à l'état de combinaison plombique. Kemmerich a trouvé comme moyenne de plusieurs analyses de son extrait de viande 0 gr. 25 à 1 °/₀ de carnine.

Tandis que la créatine, la créatinine, la xanthine et l'hypoxanthine sont des corps chimiques bien définis qui ont été isolés, il n'en est pas ainsi de la carnine et des autres composés azotés faisant partie des bases de viande et dont la constitution est encore inconnue.

Kutscher [2] a trouvé récemment dans l'extrait de viande Liebig de la méthylguanidine, carnomuscarine, ignotine, oblitine, néosine, novaïne.

Krimbert [3] a également démontré la présence de carnosine,

1. Weidel. Sur une nouvelle base retirée de l'extrait de viande. *Annalen der Chemie und Pharmacie*, 1871, **158** : 353 ; *Journ. de Pharm. et Chim.*, 1872 [4], **15** : 408.
2. Kutscher. *Zts. Nahr. Genussm.*, 1905, **10** : 528 ; *Centralbl. f. Physiol.*, 1905, **19** : 504.
3. Krimbert. *Journ. de Pharm. et Chim.*, 1907 [6], **26** : 119.

carnitine et méthylguanidine dans la viande. D'après celui-ci, la carnitine qui se trouverait dans l'extrait de Liebig serait un dérivé de la triméthylamine se rapprochant de la choline et de la bétaïne.

Les recherches, tout à fait récentes, de M. Engeland[1] montrent que cette carnitine est un acide α-oxy-γ-triméthylaminobutyrique; la base libre $C^7H^{15}AzO^3$ est un anhydride de cet acide.

VI. — *Eau.*

La quantité d'eau s'obtient dans les bouillons, en faisant la différence entre l'extrait sec et leur densité. La quantité moyenne, d'après Chevreul, serait de 985 gr. environ dans les excellents bouillons. La quantité d'eau contenue dans les extraits de viande peut s'obtenir par dessiccation à l'étuve d'un poids *p* de l'extrait et refroidissement dans le vide : la perte de poids correspond à la quantité d'eau contenue dans le produit. Lorsque l'extrait est complètement soluble dans l'eau, il est préférable de déterminer l'eau en même temps que le résidu total, par évaporation de 10 cm^3 de la solution d'extrait de viande contenant un poids *p* déterminé d'extrait.

Un bon extrait, selon Liebig, ne doit pas contenir plus de 21 °/₀ d'eau hygroscopique. Nous avons trouvé à peu près une moyenne de 19 °/₀ d'eau dans les échantillons analysés ; dans un seul extrait, cette quantité est descendue à 16 gr. 9. La quantité d'eau renfermée dans les bouillons ordinaires a été comprise entre 990 et 993 gr. (994 gr. dans un mauvais bouillon).

VII. — *Chlorure de sodium.*

Depuis les travaux de Chevreul en 1832, tous les chimistes sans exception ont signalé la présence de chlorures dans les préparations et conserves de viande, soit à l'état de chlorure de potassium, qui existerait normalement dans les cendres des différentes viandes, soit à l'état de sel de cuisine. Ce dernier est ajouté, non seulement dans un but de conservation, mais aussi pour augmenter le poids du produit. Il s'ensuit de là que le chlorure de sodium existe dans les extraits en quantité extrê-

1. M. R. Engeland. *Ber. chem. Ges.*, 1909, **43** : 2.457; *Journ. de Pharm. et Chim.*, 1909 [6], **30** : 465.

mement variable et souvent exagérée. Nous citerons un extrait de viande à bon marché, lancé récemment sur la place de Paris, contenant jusqu'à 59,66 °/₀ de chlorures exprimés en chlorure de sodium. On a signalé également, surtout en Amérique, des jus de viande renfermant des quantités énormes de sel marin.

La méthode actuelle de dosage employée officiellement au bureau de chimie du ministère de l'Agriculture des Etats-Unis, consiste à doser le chlorure de sodium dans les cendres, en dissolvant ces dernières dans l'acide azotique. Compléter dans un flacon au volume de 200 cm^3; prendre ensuite une partie aliquote, 20 cm^3 par exemple et faire le titrage au sulfocyanure ; 12 °/₀ de chlorure de sodium dans les extraits de viande sont tolérés d'après les règlements, la présence de 25 à 35 °/₀ de chlorure de sodium est considérée comme une fraude.

M. Pellerin[1] dose également les chlorures dans les cendres après incinération de l'extrait au rouge vif dans une capsule tarée et neutralisation par le carbonate de chaux, avec de l'azotate d'argent et le chromate neutre de potasse comme indicateur.

Il est inutile, pour doser les chlorures dans les bouillons et extraits de viande, de détruire la matière organique, si on emploie la méthode simple et si exacte de Lextreit, Charpentier et Volhard.

Méthode de dosage employée (Charpentier-Volhard). — Les solutions nécessaires pour ce dosage sont les suivantes :

1° Une solution décinormale d'azotate d'argent;

2° Une solution décinormale de sulfocyanate de potassium correspondant exactement à la précédente;

3° Une solution saturée d'alun de fer.

Technique : On mesure, dans une fiole d'Ernelmayer, 10 cm^3 de bouillon filtré ou 10 cm^3 de solution d'extrait de viande exempte d'albumine, on ajoute 30 cm^3 de solution décinormale d'azotate d'argent, puis 5 cm^3 d'alun de fer, 5 cm^3 d'acide azotique pur et 100 cm^3 d'eau distillée. Titrer ensuite au sulfocyanate. Soit n le nombre de centimètres cubes de sulfocyanate employés, $30-n$ correspond au nombre de centimètres cubes de nitrate d'ar-

1. Pellerin. *Guide de l'expert chimiste en denrées alimentaires.* Paris, Maloine, 1910, 743.

gent transformés en chlorure, et $(30-n) \times 0{,}00585$ correspond à la quantité de chlorure de sodium contenu dans 10 cm^3 de bouillon ou dans 10 cm^3 de solution d'extrait. Il suffit ensuite de ramener au litre pour les bouillons ou au pourcentage d'extrait.

La quantité de chlorure de sodium trouvée dans nos analyses de bouillon a été de 10 gr. 20 en moyenne, et n'a jamais été inférieure à 8 gr. d'une façon générale, ni supérieure à 12 gr. 60. Nous avons trouvé, dans un bouillon semi-liquide, 13 gr. 57 °/₀ de sel marin et 59 gr. 66 °/₀ dans un bouillon commercial signalé plus haut. Dans les extraits de viande pâteux, nous avons trouvé une moyenne de 5,38 °/₀ de chlorure de sodium; un échantillon possédait cependant 8,48 °/₀ de sel marin; l'extrait de Liebig n'en contenait que 3 gr. 393 °/₀.

VIII. — *Ammoniaque.*

Ce dosage présente une grande importance dans l'essai méthodique des bouillons et extraits de viande, parce que : 1° il nous renseigne sur le degré de conservation de ces produits; 2° il peut, avec le dosage du soufre total, renseigner sur la présence du sulfate d'ammoniaque ajouté frauduleusement aux extraits de viande dans le but d'augmenter leur contenu en azote. Cette fraude est assez générale, surtout en Amérique, où il a été trouvé des extraits de viande contenant jusqu'à 10,76 °/₀ d'ammoniaque.

Chevreul avait déjà remarqué que, pendant la cuisson, les viandes abandonnaient une certaine quantité d'ammoniaque sensible au papier d'hématine. Il attribuait une partie de cette ammoniaque aux sels ammoniacaux contenus dans l'eau employée.

Si nous passons rapidement en revue les analyses d'extrait de viande de König et Bömer, A. Stutzer, J. Bruylants, A. Denaeyer[1], nous y trouvons la présence constante d'une certaine quantité d'ammoniaque.

J. Langer[2], en chauffant la solution aqueuse d'extrait de viande, a toujours vu se dégager une certaine quantité d'ammoniaque.

Certains chimistes allemands se sont demandé si l'ammoniaque existe à l'état de sels dans les extraits de viande ou bien s'il se forme pendant la distillation. Ces chimistes[3] traitent 100 cm^3

1. König. *Chemische der menslichen Nahrungs und Genusmittel*, 1903, 1 : 93, 94, 95.
2. Langer. *Loc. cit.*
3. *Real-Enzyklopädie der gesammten Pharmazie*, 2. *Auflage*, 5, p. 375.

de solution d'extrait de viande additionné de 100 cm^3 d'eau, par la magnésie ou le carbonate de baryte, et recueillent l'ammoniaque dégagée dans une certaine quantité de solution titrée d'acide sulfurique ou chlorhydrique. Une pratique sérieuse du laboratoire suffit à montrer quels sont les inconvénients nombreux des dosages d'ammoniaque au SCHLESING ou à l'appareil AUBIN. La lenteur des opérations, les précautions nécessaires pour éviter les pertes d'alcali, la difficulté de trouver un réactif indicateur pour doser alcalimétriquement l'ammoniaque dans des solutions très diluées, ont empêché de nombreux opérateurs d'employer cette méthode.

En dehors de ces inconvénients, notons qu'il peut passer certains produits volatils à la distillation pouvant gêner le dosage alcalimétrique, même en présence de tournesol d'orcine, un des meilleurs indicateurs colorés pour le dosage de l'ammoniaque.

Il est préférable de se servir du procédé suivant, qui a l'avantage d'être à la fois exact et très rapide, et qui permet de doser des traces d'ammoniaque.

Dosage au formol (RONCHÈSE)[1]. — Ce procédé repose sur le principe suivant : l'aldéhyde formique, en présence de sels ammoniacaux, donne naissance à de l'hexaméthylène tétramine avec mise en liberté de l'acide du sel, lequel peut ensuite être titré par l'acidimétrie.

Technique : On étend 10 cm^3 de bouillon ou 10 cm^3 de solution d'extrait de viande à 1 % (il suffit pour cela de diluer convenablement la solution mère à 4 % environ qui a servi pour les autres dosages) à 100 cm^3 au moyen d'eau distillée bouillie, et on neutralise ensuite exactement par de la soude décinormale, après addition de quelques gouttes de phénolphtaléine. Mais comme les sels ammoniacaux agissent sur la phénolphtaléine en retardant l'apparition de la teinte rose, l'auteur de ce procédé de dosage fait subir une légère correction au nombre obtenu dans le titrage acidimétrique.

Au bouillon ou à la solution d'extrait de viande étendue, on ajoute 20 cm^3 de formol du commerce, coupé de moitié d'eau et préalablement neutralisé, puis on sature ensuite avec de la soude

1. A. D. RONCHÈSE. Méthodes de dosages de quelques composés azotés. *Th. pharm.* Paris, Lahure, 1908.

décinormale jusqu'à coloration légèrement rose. Au nombre de centimètres cubes de soude obtenus, on ajoute comme correction 0,1 cm³ par 3 cm³.

Soit n le chiffre corrigé, le poids d'ammoniaque contenu dans 1 litre de bouillon ou dans 1.000 cm³ de solution d'extrait sera donné par la relation :

$$x = n \times 0{,}17.$$

Pour les extraits, il suffit de ramener par le calcul le résultat à 100 gr. d'extrait de viande. Si l'on veut obtenir le résultat en azote, il faudra multiplier les poids p et p' d'ammoniaque contenus dans 1 litre de bouillon ou dans 100 gr. d'extrait de viande par le facteur 0,8235.

D'une façon générale, la quantité d'ammoniaque trouvée dans les bouillons du commerce ou dans les bouillons de ménage surtout se chiffre par quelques centigrammes seulement ; elle ne dépasse pas en général 0,10 à 0,15 centigr. et peut descendre jusqu'à 0,05 centigr. par litre. Dans l'analyse de quelques échantillons d'extrait de viande que nous avons passés en revue, la quantité d'ammoniaque trouvée est légèrement supérieure à celle mentionnée dans les classifications de König.

La moyenne de plusieurs dosages d'ammoniaque dans l'extrait de Liebig est de 0,48 °/₀, tandis que nous avons trouvé pour le même extrait, comme moyenne de dosage de trois échantilllons, 0,52 °/₀.

Nous avons pensé aux critiques qui pourraient s'élever dans l'application de ce procédé si simple au dosage de l'ammoniaque dans les bouillons et extraits de viande. On pourra nous reprocher de doser ainsi, à la fois, par la méthode au formol, l'ammoniaque et les amino-acides qui seraient contenus, d'après Micko[1], dans les extraits de viande.

Si l'on se rapporte au mémoire de Sörensen, on voit que le dosage au formol s'applique presque exclusivement au glycocolle, qui est susceptible en effet d'être contenu dans les extraits de viande renfermant de la gélatine, puisqu'il est un produit de dédoublement de cette dernière, mais non aux autres monoamino ou diamino-acides dont les rendements sont tout à fait variables, comme l'a vérifié Sörensen lui-même.

1. Micko. *Zts. Nahr. Genussm.*, 1902, **5**:193; *Zts. für physiol. Chemie*, 1903, **56**:181.

Les résultats de nos analyses montrent suffisamment que ces amino-acides n'existent pas en grande quantité, du moins dans les bouillons où la gélatine trouvée, précipitable par le chlorure de sodium à saturation en milieu neutre, n'a pas eu le temps d'être transformée, ni même dans les extraits de viande où la quantité d'ammoniaque trouvée est normale ou très légèrement supérieure à celle mentionnée dans les analyses publiées en Allemagne, mais souvent de beaucoup inférieure aux chiffres publiés aux États-Unis sous la direction de W. D. Bigelow et F. C. Cook[1].

Nous avons essayé d'appliquer le procédé de M. Ronchèse au dosage de l'ammoniaque dans les peptones du commerce. La différence énorme entre les résultats obtenus par l'ancien procédé de Schlesing et celui de M. Ronchèse montre suffisamment que les peptones contiennent une assez forte proportion de mono-amino et diamino-acides qui rendent l'application du procédé de Ronchèse impossible au dosage de l'ammoniaque dans les peptones.

IX. — *Azote total.*

La détermination de l'azote total dans les bouillons et extraits de viande a toujours été considérée comme une opération importante permettant d'apprécier la valeur de ces produits, sans cependant être la garantie d'une fabrication irréprochable. On a signalé, en effet, ces dernières années, en Amérique surtout, l'introduction dans les préparations à base de viande de nitrates, caractérisés par le réactif à la diphénylamine, dans le but d'augmenter la teneur en azote total ou de remédier à son insuffisance.

Le dosage de l'azote total dans les bouillons et les extraits de viande peut s'effectuer par la méthode de Will et Warrentrapp à la chaux sodée. Ce procédé a été employé antérieurement par Lebaigues dans l'analyse de plusieurs extraits Liebig, ainsi que par Roth et Lex dans l'analyse du même extrait de viande qui doit contenir, d'après ces auteurs, au moins 8 °/₀ d'azote total et de 9 à 9,5 °/₀ dans les bons extraits. La méthode employée aujourd'hui par les chimistes est la méthode de Kjeldhal ou la méthode de Kjeldhal modifiée.

1. U. S. Department of Agriculture, Bureau of Chemistry, *Bull.* nº 114, p. 16-17.

Nous nous sommes servi d'une méthode mixte, beaucoup plus simple et plus rapide, dont nous avons emprunté la technique au procédé de Denigès pour le dosage de l'azote total dans les urines au moyen de l'oxalate neutre de potasse, et au procédé de Ronchèse pour le dosage de l'ammoniaque dans ces mêmes urines.

Méthode de dosage employée (Kjeldhal). — *Mode opératoire* (Denigès[1]-Ronchèse) : Dans un ballon à fond rond, de 500 cm^3 en verre d'Iéna et dont le col doit avoir 15 à 20 ctm. de longueur, on introduit successivement :

Bouillon ou solution d'extrait de viande.	20 cm^3
Oxalate neutre de potasse à 30 °/₀	5 —
Acide sulfurique pur.	5 —

Chauffer sur une toile métallique un peu excavée placée sur une cheminée de Berthelot (le ballon étant incliné à 45° environ, afin d'éviter autant que possible l'introduction des poussières du laboratoire, qui pourraient fausser les résultats) jusqu'à évaporation complète de l'eau. A ce moment, modérer le feu et placer un petit entonnoir taillé en biseau, pour permettre à l'acide sulfurique qui distille de retomber dans le ballon. S'il se produit une mousse assez abondante, ajouter quelques centimètres cubes d'alcool.

Cette précaution n'est généralement pas nécessaire pour les bouillons, l'attaque se faisant régulièrement. Régler le feu de façon à avoir une ébullition tranquille mais continue, et chauffer ainsi jusqu'à décoloration complète, soit trois quarts d'heure environ pour les bouillons, et un peu plus pour les extraits.

Quand la décoloration est obtenue, enlever le ballon du feu et le laisser refroidir à la température du laboratoire. Additionner ensuite le résidu d'eau distillée bouillie et compléter au volume de 100 cm^3 dans un petit ballon gradué, après avoir eu soin de bien rincer à l'eau distillée le ballon qui a servi à la transformation en sulfate d'ammoniaque.

Prendre ensuite 5 cm^3 de la solution (qui représentent 1 cm^3 de bouillon ou 1 cm^3 de solution d'extrait de viande à 4 ou 5 °/₀ environ). Cette prise d'essai est étendue d'eau distillée bouillie

1. G. Denigès. *Chimie analytique*, 2e édit., 1903, 639, Storck-Lyon.

et additionnée de quelques gouttes de solution de phénolphtaléine. On neutralise ensuite presque entièrement la solution acide de sulfate d'ammoniaque par de la soude pure, puis par de la soude pure au 1/4 jusqu'à coloration légèrement rose et on ramène ensuite l'acidité par une ou deux gouttes d'acide acétique au 1/20. On achève ensuite la neutralisation par de la soude décinormale.

Ajouter alors, comme pour le dosage de l'ammoniaque, 20 cm^3 de solution de formol au demi neutralisé, et on verse de la soude décinormale jusqu'à coloration rose persistante. Le nombre de centimètres cubes de soude titrée versés après addition de formol est augmenté de 0 cm^3 1 par 3 cm^3 (correction).

Soit x le chiffre obtenu : $x \times 1{,}4 =$ poids d'azote total par litre de bouillon ou par litre de solution d'extrait employée.

Dans le cas des extraits de viande, ramener par le calcul le résultat à 100 gr. d'extrait.

Cette méthode nous a donné également d'excellents résultats pour le dosage de l'azote total dans les peptones du commerce, résultats entièrement comparables à ceux des analyses déjà publiées.

Dans la littérature biologique, nous trouvons peu ou pas d'analyse type de bouillons capable de nous renseigner sur leur contenu en azote, élément dont le dosage est cependant indispensable. Un bouillon préparé dans les fourneaux de la municipalité de Nantes avec bœuf et os 30 gr. de chaque, eau 200 gr., contenait, paraît-il, 1 gr. 006 d'azote total par litre. Le contenu en azote des excellents bouillons est toujours compris entre 1 gr. et 1 gr. 20 par litre.

Certains bouillons (exemple : ceux préparés par nous au B.-M. ou par coction) possédaient une teneur en azote total de 1 gr. 37 et 1 gr. 47 par litre. Nous pouvons dire d'une façon générale qu'un bon pot-au-feu doit contenir au moins 1 gr. d'azote total par litre.

Si peu d'analyses mentionnent le contenu en azote total des bouillons, il suffit par contre de jeter un rapide coup d'œil dans les classifications de König pour être renseigné sur la teneur normale en azote des extraits de viande. D'après Liebig, un bon extrait doit contenir entre 8 gr. 50 et 9 gr. 50 d'azote. Dans nos analyses d'extraits de viande, cette quantité a varié de 7 gr. 77 à 9 gr. 25 °/₀ avec une moyenne de 8,68 °/₀.

Ces résultats suffisent à démontrer que le procédé de dosage de l'ammoniaque de M. Ronchèse appliqué au dosage de l'azote total dans les préparations à base de viande, donne des résultats en tous points comparables à ceux publiés antérieurement.

X. — *Bases puriques.*

D'après Micko[1], les bases xanthiques dérivées, comme on le sait, d'un corps unique, la purine, isolée par Fischer, seraient formées surtout dans l'extrait de viande, d'hypoxanthine, à côté de petite quantité d'adénine, guanine et xanthine. Micko a dosé ces différents corps en multipliant la quantité d'azote obtenu par différence et provenant des bases xanthiques par le facteur $\frac{100}{41,18} = 2,428$ de l'hypoxanthine.

La détermination de la quantité des bases xanthiques dans les extraits de viande est du plus grand intérêt surtout depuis plusieurs années ; en effet, certains fabricants peu scrupuleux ont cherché à falsifier les extraits de viande par addition d'extrait de levures contenant une assez forte proportion de composés xanthiques.

La présence d'extrait de levures dans les extraits et bouillons de viande a été signalée et étudiée par Lebbin[2], qui a donné un procédé de dosage du glycogène dans les extraits de viande, par Searl[3], par Wintgen[4] et aussi par Arnold et Mentzel[5]. M. A. Gautier[6] a trouvé 0 gr. 25 de composés xanthiques par litre de bouillon et 0,89 °/₀ dans l'extrait de Liebig. K. Micko[7] en signale dans le même extrait 0,648 °/₀ : d'après lui, la richesse en composés xanthiques du bouillon Maggi viendrait de l'addition d'extrait de levures. König[8] a signalé jusqu'à 0,795 °/₀ d'azote xanthique dans certaines préparations se rapprochant des extraits de viande.

Quelques chimistes ont caractérisé les composés xanthiques

1. Micko. *Zeitschrift f. Untersuchung. d. Nahrungs u. Genussm.*, 1903, **6**:781.
2. Lebbin. *Zeitschrift der allg. oster. Apotheker Vereines*, 1898:599; *Répertoire Pharmacie*, 1898 [3], **10**:509.
3. Searl. *Pharmaceutical Journal*, 1903, **71**:516; 1904, **72**:86.
4. Wintgen. *Archiv der Pharmazie*, 1904, **242**:537.
5. Arnold et Mentzel. *Pharm. Ztg*, 1904, **49**:176.
6. A. Gautier. *Loc. cit.*
7. K. Micko. *Zeitschr. f. Untersuchung. d. Nahrungs u. Genussm.*, 1902, **5**:193.
8. König. *Chemie der menslichen Nahrungs und Genussm.*, 1904, **2**:1475.

des extraits de viande dans le liquide filtré obtenu après précipitation par l'acide phosphotungstique, en neutralisant ensuite par l'ammoniaque pour précipiter les phosphates, filtrant et ajoutant de l'azotate d'argent à 2 °/₀.

Le précipité qui se forme serait dû aux composés xanthiques. C'est sur ce principe qu'est basée la méthode de dosage des corps xanthiques de Schittenhelm[1], ou bien encore la méthode de Schittenhelm modifiée[2].

Toutes ces méthodes manquent de précision et de rapidité, aussi est-il préférable de se servir de la méthode volumétrique de Haycraft-Denigès, employée dans l'analyse des urines pour le dosage en bloc des corps xanthiques et de l'acide urique.

Procédé de dosage employé (Haycraft-Denigès). — Ce procédé repose sur le principe suivant : les bases xanthiques traitées par l'azotate d'argent ammoniacal en présence d'un sel magnésien, donnent un urate double d'argent et de magnésie parfaitement défini. Dès lors, si l'on emploie pour cette précipitation une liqueur d'argent titrée en excès, en dosant l'excès d'argent non combiné, on pourra en déduire la quantité entrée en combinaison avec les composés xanthiques et, par suite, avoir le poids de ces derniers. Il faut pour cela préparer les solutions suivantes :

1° Solution A.

Chlorhydrate d'ammoniaque chimiquement pur. . .	150 gr.
Chlorure de magnésium chimiquement pur	100 gr.
Ammoniaque pure.	700 cm^3

Introduire le tout dans un matras jaugé de un litre ; faire dissoudre ensuite à 30° environ et compléter à 1000 cm^3 avec de l'eau distillée. Agiter, filtrer. Après refroidissement à 15°, mélanger un volume de cette solution avec un volume de solution décinormale d'azotate d'argent (17 gr. par litre). Nous avons ainsi une solution argentique ammoniaco-magnésienne demi-décinormale.

2° Solution B : de cyanure de potassium, titrée exactement par rapport à une solution décinormale d'azotate d'argent et correspondant exactement à cette dernière.

3° Une solution d'iodure de potassium à 10 °/₀.

1. U. S. Department. Agr., Bureau of Chemistry. *Bull.* n° 99:129.
2. *Ibid. Bull.* n° 114:41.

4° Une solution décinormale d'azotate d'argent à 17 gr. par litre.

Technique : Dans un verre à expérience, ou mieux dans une éprouvette bouchant à l'émeri, on mesure 100 cm³ de bouillon exempt d'albumine ou de solution d'extrait de viande et 25 cm³ de solution A ; agiter et filtrer.

On recueille 100 cm³ correspondant à 80 cm³ de bouillon ou de solution d'extrait et à 20 cm³ de solution A, c'est-à-dire à 10 cm³ de solution décime d'azotate d'argent. On ajoute 10 cm³ de la solution décime de cyanure B, 1 cm³ d'iodure de potassium et on verse goutte à goutte la solution décinormale d'azotate d'argent jusqu'à louche persistant.

Soit n le nombre de centimètres cubes de solution décime employés : il représente la quantité combinée aux bases xanthiques, et comme chaque centimètre cube correspond à 0 gr. 0152 de xanthine, on aura :

$$\frac{n \times 0{,}0152}{80} = \frac{x}{100} \text{ d'où } x = \frac{n \times 15{,}2}{80} = 0{,}19.$$

Il suffit donc de multiplier le nombre de centimètres cubes de solution décime argentique par le facteur 0,19 pour avoir le poids des composés xanthiques (représentés en xanthine) contenu dans un litre de bouillon ou dans 1.000 cm³ de la solution d'extrait de viande employée.

D'après nos analyses, la quantité moyenne de xanthine trouvée dans les bouillons soumis à nos expériences serait de 0 gr. 25 °/₀ environ par litre et de 0,95 °/₀ dans les extraits de viande. Il ne faut cependant pas attacher trop d'importance aux moyennes que nous venons d'indiquer, la quantité de bases xanthiques étant extrêmement variable suivant les échantillons analysés. C'est ainsi que l'extrait de Liebig préparé avec de la viande fraîche d'animaux qui n'auraient pas travaillé, contiendrait beaucoup moins de composés xanthiques que les autres extraits de viande. Il ne faut pas oublier non plus que les bouillons et les extraits de viande peuvent être falsifiés par addition d'extrait de levures, riches en bases puriques.

XI. — *Bases créatiniques.*

La créatine et la créatinine (anhydride de la créatine) sont deux substances amidées contenues dans la viande.

La créatine a été découverte et retirée de la viande par Chevreul [1], qui lui donna son nom, et caractérisée ensuite par lui dans le bouilli et le bouillon de ménage.

Ces deux corps, la créatine surtout, existent dans les muscles et font partie des principaux constituants des bouillons et extraits, les autres bases de viande ne s'y trouvant qu'en proportion beaucoup moindre.

La créatinine étant l'anhydride de la créatine, il faut s'attendre à la trouver en plus forte proportion que la créatine dans les bouillons et extraits de viande. Ces préparations subissent en effet en milieu acide une cuisson assez longue, qui suffit à convertir une partie ou la totalité de la créatine en créatinine. L'expérience est venue confirmer ces faits, car dans les bouillons les bases créatiniques sont uniquement sous la forme de créatinine, à l'exception cependant des bouillons préparés par nous à feu nu ou au B.-M. et qui n'ont subi l'action de la chaleur que pendant un temps relativement court. Nous verrons que dans les extraits de viande semi-liquides, pâteux ou solides, la teneur en créatinine est toujours supérieure à celle de la créatine.

Le dosage de la créatine et de la créatinine constitue donc une des opérations les plus importantes pour établir la source et la pureté des extraits de viande principalement, ceux-ci devant contenir une assez forte proportion de ces bases. On a signalé des extraits ne contenant ni créatine ni créatinine. Ces produits peuvent dès lors être considérés comme suspects : en effet, nous avons déjà indiqué la falsification des extraits de viande par les extraits de levure, lesquels, d'après E. Baurand et H. Barschall [2] ne contiennent ni créatine, ni créatinine, tandis que, d'après Grindley et Wood [3], ces bases existeraient en quantité variable dans les extraits de viande où ils ont réussi à les séparer.

Selon Kemmerich [4], il y aurait dans l'extrait frais pas ou peu de créatine, mais de grandes quantités de créatinine, comme il l'avait déjà remarqué dans la viande de cheval. Il a trouvé dans son extrait 4,33 °/₀ de créatinine qu'il a dosée par isolement au chlorure de zinc alcoolique en solution neutre et concentrée.

1. Chevreul. *N. ann. Mus. Hist. Nat.*, 1832, 306 (note 1).
2. E. Baurand et H. Barschall. *Arb. Kaisl. Gesundheitsamt,* 1906, **24**:562.
3. Grindley et Wood. *J. Biol. Chem.*, 1907, **2**:309.
4. Kemmerich. *Zeitschrift f. physiol. Chem.*, 1893, **18**:408, 422.

D'après SALKOWSKI [1], il n'y aurait pas de créatine dans un extrait de viande type; cependant, d'après lui, 20 °/₀ de l'azote total contenu dans les extraits de viande seraient sous la forme de bases créatiniques. MICKO [2] aurait trouvé dans un extrait de LIEBIG jusqu'à 6 °/₀ de créatine.

M. A. GAUTIER [3] a signalé 0 gr. 90 de bases créatiniques totales par litre de bouillon et 8,30 °/₀ dans l'extrait de LIEBIG.

M. POUCHET aurait rencontré 1,848 °/₀ de créatine, créatinine et carnine dans l'extrait de LIEBIG et 1,679 °/₀ de créatine, 1,920 °/₀ de créatinine, 2,724 °/₀ de carnine dans l'extrait CIBILS.

Nous voyons, d'après ce qui précède, qu'il existe de nombreux désaccords entre les auteurs au sujet de la richesse en bases créatiniques des bouillons et des extraits de viande principalement. Ceci vient évidemment des méthodes de dosage employées, beaucoup de physiologistes et même de chimistes, ayant dosé ces bases par différence. Il est préférable de se servir de la méthode de NEUBAUER et SALKOWSKI au chlorure de zinc, par formation d'un chlorure double de zinc et de créatinine, ou mieux de la méthode colorimétrique de FOLIN, beaucoup plus rapide et employée pour le dosage de la créatinine dans les urines.

Méthode colorimétrique de Folin [4]. — La coloration dont on mesure l'intensité par le colorimètre de DUBOSQ, est celle que donne la réaction de JAFFÉ. Dix milligrammes de créatinine dissous dans 100 cm³ d'eau donnent une coloration qui est maxima de 5 à 10 minutes après l'addition de 15 cm³ d'une solution saturée d'acide picrique et de 4 à 8 cm³ de soude pure à 10 °/₀. Si l'on dilue ensuite à 500 cm³ cette liqueur colorée, on obtient une solution qui, examinée sous une épaisseur de 8 mm. 1, présente la même teinte qu'une solution contenant 24 gr. 54 de bichromate de potasse par litre observée sous la même épaisseur.

Mode opératoire: La technique est la même que pour le dosage de la créatinine dans les urines, c'est-à-dire que 10 cm³ de bouillon ou de solution d'extrait de viande à 4 ou 5 °/₀ environ sont additionnés de 15 cm³ de solution saturée d'acide picrique

1. SALKOWSKI. *Ber. d. Chem. Ges.*, 1894, **27**:499.
2. MICKO. *Loc. cit.*
3. A. GAUTIER. *Loc. cit.*
4. FOLIN. *Zts. physiol. Chem.*, 1904, **41**:223.

et de 5 cm³ de soude chimiquement pure à 10 °/₀ ; agiter, laisser en contact 10 minutes et diluer avec une quantité d'eau distillée suffisante pour obtenir 500 cm³.

Comparer alors la teinte de cette solution diluée avec celle que donne la solution type de bichromate de potasse vue sous une épaisseur de 8 mm. 1. On déduit alors la teneur en créatinine du bouillon ou de la solution d'extrait de viande de l'épaisseur qu'il a fallu donner à la dilution de ces dernières pour que leur teinte apparaisse identique à celle de la dilution de bichromate (c'est-à-dire à la teinte que l'on obtient en effectuant la réaction de Jaffé sur 10 cm³ d'une solution de créatinine au millième et diluant ensuite à 500 cm³).

Il faut toujours faire en sorte que l'égalité de teinte obtenue soit comprise entre 5 et 13 mm. ; on obtient de cette façon des résultats beaucoup plus exacts. Dès lors, il est nécessaire d'opérer avec des quantités variables de bouillon ou de solution d'extrait de viande, selon leur richesse en créatinine : dans l'analyse des bouillons relativement pauvres en créatinine, il nous a fallu opérer sur des prises d'essai de 30, 50 et quelquefois même de 100 cm³. Pour les extraits de viande, nous avons opéré sur une moyenne environ de 30 cm³ de solution d'extrait de viande à 4 °/₀ environ.

Supposons que 7,5 mm. soit l'épaisseur sous laquelle il a fallu observer la dilution de l'une des solutions précédentes pour que leur teinte apparaisse semblable à celle de la solution de bichromate de potasse, vue sous une épaisseur de 8 mm. 1, la quantité de créatinine contenue dans 10 cm³ de bouillon ou de solution d'extrait sera de :

$$\frac{8,1}{7,5} \times 10 = 10 \text{ milligr. } 8, \text{ soit } 1 \text{ gr. } 08 \text{ pour } 1000 \text{ cm}^3.$$

Si, au lieu de prendre 10 cm³, il a fallu opérer sur 20, 30 ou 50 cm³, il est nécessaire d'en tenir compte dans le calcul final.

Cette méthode simple et rapide permet également de doser la créatine qui existe dans les extraits de viande, mais en quantité moindre que la créatinine. Il suffit pour cela de chauffer pendant trois heures au moins, au bain-marie, dans un petit ballon de 250 cm³ avec réfrigérant à reflux, 10, 20, 30 cm³ de la solution d'extrait de viande avec 5 cm³ d'acide chlorhydrique normal.

Benedict et Myers[1] font la transformation de la créatine en créatinine à l'autoclave, ce qui abrégerait considérablement le temps de l'opération. Il suffit dès lors d'effectuer un deuxième dosage colorimétrique comme précédemment.

La différence des résultats trouvés dans le premier et le deuxième dosage donne la quantité de créatine contenue dans l'extrait de viande analysé. On obtiendra la quantité d'azote correspondant à la créatine et à la créatinine en multipliant les poids p et p' de créatine et créatinine obtenus par les facteurs 0,3206 et 0,3716.

La quantité de créatinine trouvée dans l'analyse des meilleurs bouillons du commerce et des hôpitaux, a toujours été comprise entre 0 gr. 20 et 0 gr. 30 par litre; elle se chiffre par quelques centigrammes dans les bouillons inférieurs où une grande partie de la viande a été remplacée par le même poids d'os concassés.

Notons en passant qu'un bouillon riche en composés xanthiques, comme l'échantillon n° 2 (Voir tableau, p. 99) acheté dans le commerce, peut être dépourvu presque entièrement de bases créatiniques, tout en ayant une teneur en azote total voisine de la moyenne. Il est permis dès lors de soupçonner dans un tel produit l'addition d'extrait ou d'infusion de levures, dans le but unique de remplacer l'azote manquant.

La teneur en bases créatiniques totales des échantillons de bouillon préparés par nous par coction ou au bain-marie pendant le même temps, est heureusement plus élevée et atteint 0 gr. 491 par litre. Il est à remarquer que la transformation de la créatine en créatinine semble s'effectuer dès les premiers moments où le bouillon est soumis à l'action de la chaleur et que la quantité transformée varie progressivement selon la durée de chauffe et selon la température obtenue. C'est ainsi que, dans un bouillon préparé au bain-marie et soumis pendant le même temps à l'action de la chaleur, la quantité de créatinine trouvée est moins élevée que dans le bouillon correspondant préparé par coction, et avec la même qualité et la même quantité de viande maigre, mais, en revanche, on y trouve davantage de créatine non transformée. Cela suffirait à démontrer que les bases créatiniques sont surtout contenues dans la viande et dans les muscles presque exclusivement à l'état de créatine.

1. Benedict et Myers. *Am. J. Physiol.*, 1907, **18** : 397.

La quantité de bases créatiniques totales contenues dans les extraits de viande est, d'après nos analyses, comprise entre 1 gr. 60 et 2 gr. 10 °/₀ avec une quantité de créatine variant de 0 gr. 27 à 0 gr. 643 °/₀, mais toujours inférieure à celle de la créatinine. Quelquefois même, dans certains échantillons, la créatine est complètement transformée et on ne trouve que de la créatinine qui peut atteindre, comme dans un échantillon que nous avons eu l'occasion d'analyser, jusqu'à 2,025 °/₀.

Dans un bouillon concentré suspect lancé récemment dans le commerce, contenant comme nous l'avons déjà dit une très forte proportion de sel marin, nous n'avons trouvé que 0,85 °/₀ de créatinine.

XII. — *Matières grasses.*

Un bon extrait de viande doit contenir tout au plus, d'après Liebig, 1 gr. 50 °/₀ de graisses. La présence de ces dernières, dans les extraits de viande, dénote un manque de soin dans leur fabrication ; aussi y trouve-t-on peu de graisses d'une façon générale.

Denaeyer a trouvé 0,21 °/₀ de matières grasses dans l'extrait de Liebig et 0,27 °/₀ dans le Bovril. Il en a été signalé jusqu'à 5,79 °/₀ dans le Valentin's Meat Juice et 2,19 °/₀ dans le bouillon Maggi en capsules.

La méthode de dosage officielle employée aux États-Unis consiste à sécher une partie de l'échantillon en présence de sable et à extraire ensuite par l'éther anhydre dans un appareil à extraction continue pendant dix heures.

La méthode d'Adam nous a donné d'excellents résultats en opérant sur 10 cm^3 de bouillon ou sur 10 cm^3 de solution d'extrait dans une ampoule spéciale servant au dosage du beurre dans le lait et en prenant toutes les précautions recommandées pour cette opération.

La quantité de graisses trouvée a été en moyenne de 0 gr. 99 par litre de bouillon filtré au papier et à froid.

Cette quantité est variable suivant les échantillons analysés, aussi ne faut-il attacher qu'une importance secondaire à ce dosage. La teneur en graisses des bouillons concentrés et extraits de viande, paraît moins élevée que dans les bouillons ordinaires : la moyenne a été de 1 gr. environ °/₀ dans les extraits de viande

analysés. Cette quantité n'a jamais été supérieure à 1,375 °/₀ dans les extraits pâteux, ni inférieure à 0,55 °/₀. Nous avons trouvé dans un bouillon semi-liquide 0,35 °/₀ de graisses, et 5,81 °/₀ dans un bouillon concentré suspect, riche en chlorure de sodium. La faible teneur en azote total de ce dernier bouillon, son haut pourcentage en matières grasses et en matières minérales formées presque exclusivement de sel marin, suffisent largement à le condamner.

XIII. — *Glucose.*

Nous avons vu précédemment que le glucose existe dans la plupart des bouillons à côté de traces d'acide glycuronique, et que ces deux matières réductrices tirent leur origine de la viande musculaire qui a servi à leur préparation. Le glucose caractérisé plus haut à l'état de phénylglucosazone fondant à 230°-232° au bloc de Maquenne (fusion instantanée de Bertrand), n'existe que très rarement et à l'état de traces dans les extraits de viande.

On peut être amené à doser le glucose dans les bouillons, l'absence totale de ce corps réducteur pouvant faire croire à la substitution d'une partie ou de la totalité de la viande par des os. Voici la technique que nous avons employée et que nous conseillons dans ce cas. Le dosage se fait à la liqueur de Felhing toute préparée, ou, mieux, employée en deux solutions séparées.

Mode opératoire : à 50 cm³ de bouillon, on ajoute 25 cm³ de réactif de Patein, puis goutte à goutte de la soude, puis de la soude diluée jusqu'à réaction neutre au tournesol sensible. On complète ensuite à 100 cm³ et on filtre. A 50 cm³ du filtrat; on ajoute 2 gr. de zinc pulvérisé et on agite de temps en temps pendant deux ou trois heures. Filtrer.

On prépare alors une solution de glucose à 0 gr. 25 °/₀ dont 1 cm³ correspond à 0,0025 de glucose, et on note selon la technique de M. Grimbert[1] pour le dosage du glucose, dans le liquide céphalo-rachidien, le nombre de centimètres cubes nécessaires pour décolorer 10 cm³ de liqueur de Fehling, en présence de 5 cm³ de solution de ferrocyanure de potassium, selon la modification de Causse-Bonnans. Soit n le nombre de centimètres cubes nécessaires.

1. Guiart et Grimbert. *Diagnostic chimique, microscopique, parasitologique.* Paris, Rudeval, 1908 : 288.

Dans une deuxième opération, on ajoute à 10 cm^3 de liqueur de Fehling 20 cm^3 de liquide déféqué précédemment, et on porte à l'ébullition en présence de ferrocyanure et de quelques grains de pierre ponce, et on maintient l'ébullution pendant une minute environ. On achève la réduction à l'aide de la solution de glucose titrée.

Soit n' le nombre de centimètres cubes employés, $n\text{-}n'=x$ qui correspond au glucose contenu dans 20 cm^3 de liquide déféqué, c'est-à-dire à

$$x \times 0,0025.$$

Il suffit ensuite de ramener au litre, en tenant compte par le calcul de la dilution produite par la défécation.

Les résultats ainsi obtenus ne seront pas d'une extrême rigueur, puisqu'une partie de la réduction revient aux composés glycuroniques contenus dans la plupart des bouillons. Un dosage intégral du glucose consisterait à faire le dosage comme précédemment en notant soigneusement le nombre de centimètres cubes par litre de bouillon nécessaires à la réduction. On ferait ensuite un deuxième dosage après fermentation par la levure de bière, qui fait disparaître le glucose et laisse l'acide glycuronique. La différence avec le premier dosage donnerait exactement le nombre de centimètres cubes correspondant à la réduction par le glucose.

On a signalé, en dehors des éléments que nous venons de passer en revue, l'addition frauduleuse, dans les extraits de viande et principalement dans les extraits fluides, de glycérine, dans le but d'augmenter le poids et l'homogénéité de ces produits, ou encore dans un but unique de conservation.

Des méthodes ont été publiées pour doser la glycérine dans les extraits de viande, telles : celle de Lane[1], en Amérique (à l'alcool et au chloroforme, comme dissolvants), ou encore la méthode à l'acétone. Ces deux méthodes ont été considérées comme inexactes par plusieurs auteurs ; la deuxième, paraît-il, donnerait des résultats beaucoup trop élevés à cause du pouvoir dissolvant de l'acétone, qui s'étendrait non seulement à la glycérine, mais aussi à quelques sels et à certaines matières extractives.

1. U. S. Dept. Agr. Bureau of Chemistry, *Bull.* n° 114 : 43.

On a signalé également l'addition frauduleuse d'amidon dans les extraits de viande, ainsi que d'acide borique et d'acide salicylique, ces deux dernières substances ajoutées dans un but de conservation.

De ces quatres substances, glycérine, amidon, acide borique et acide salicylique, aucune n'a été trouvée même à l'état de traces dans les échantillons que nous avons eu l'occasion d'analyser.

XIV. — *Séparation et dosage des matières albuminoïdes et de la gélatine dans les extraits de viande.*

Nombreuses sont les méthodes qui ont été publiées dans le but de séparer et doser les matières albuminoïdes dans les préparations de viande ou dans les préparations qui en dérivent, comme les peptones.

Aucune de ces méthodes n'a donné jusqu'ici de résultats satisfaisants, surtout quand il s'agit de mélanges de matières protéiques, collagènes et extractives, comme dans le cas des extraits de viande : beaucoup de réactifs précipitent à la fois et les matières albuminoïdes et les matières collagènes (Ex. gélatine), et aussi parfois les matières extractives, comme la créatine et la créatinine.

Les méthodes les plus récemment publiées sont :

1° Celle de MM. S. Grindley et A. D. Emmett[1] appliquée pour la première fois aux Etats-Unis à l'analyse de la viande et généralisée ensuite à l'analyse de son extrait;

2° La méthode au brome employée également aux Etats-Unis.

La première de ces méthodes est basée sur le principe suivant :

1° Dosage de l'azote total au Kjeldahl;

2° Dosage de l'albumine coagulable ;

3° Dosage des albumoses et protéoses par la méthode de A. Bomer[2] au sulfate de zinc en milieu acétique et sulfurique et détermination de l'azote correspondant;

4° Dosage des peptones : Après coagulation de l'albumine par la chaleur, s'il y a lieu, neutralisation et précipitation par l'emploi du chlorure de sodium et de la solution de tanin à 12 °/₀, qui

1. Grindley et Emmett. *Journal of the American Chemic. Soc.*, 1905, **27** : 658; *J. de pharmacie et chimie*, 1905, **22** : 132.
2. A. Bomer. *Zeitsch. Anal. Chem.*, 1895, **34** : 562.

précipite les albumoses et les peptones, on dose l'azote dans le filtrat, au bout de vingt-quatre heures, pour obtenir l'azote des composés non protéiques. Par différence avec l'azote total, on a l'azote des substances azotées précipitables par la chaleur, par le sulfate de zinc et par le tanin en présence de chlorure de sodium, c'est-à-dire l'azote de l'albumine coagulable + l'azote des albumoses + l'azote des albumoses et peptones. Si l'on retranche à la fois l'azote des substances coagulables par la chaleur et l'azote des corps précipités par le sulfate de zinc, on obtient l'azote des peptones qu'il suffit de multiplier par le coefficient 6,25 pour avoir le poids de peptones contenu dans le produit analysé.

Cette méthode très ingénieuse ne nous paraît pas facilement applicable à l'analyse des extraits de viande quand ceux-ci contiennent à la fois des matières albuminoïdes vraies, surtout des albumoses, et de la gélatine, à cause de l'action dissolvante des acides sulfurique et acétique sur la gélatine. Une partie de cette dernière pourrait être comptée ensuite comme peptone vraie, dans le dosage de l'azote du précipité obtenu avec le tanin; de plus, la précipitation complète des albumoses par le sulfate de zinc est discutée, le sulfate de zinc, agissant comme le sulfate de magnésie à saturation, lequel, comme nous l'avons vérifié, précipite seulement les albumoses primaires (Khune).

La méthode au brome[1] très employée par les chimistes américains, a le défaut d'être à la fois peu exacte, mais surtout peu pratique, aussi la mentionnerons-nous qu'à titre documentaire. De plus cette méthode présente les mêmes inconvénients que la méthode précédente au point de vue de l'emploi du réactif au sulfate de zinc et acide sulfurique.

Beaucoup de chimistes, pour ne pas dire la plupart, se sont obstinés à doser les peptones vraies dans les extraits de viande alors qu'il n'en existe pas. A peine pourrait-on soupçonner dans quelques échantillons la présence de traces d'albumoses par la coloration rosée à chaud avec le réactif de Millon, quoique ce soupçon pourrait être écarté si l'on considère que la gélatine purifiée par un long séjour dans l'eau constamment renouvelée, par la méthode de Hofmeister, donne cette coloration à chaud. Cependant on a signalé, à tort ou à raison, la présence d'assez

1. Pellerin. *Loc. cit.*, p. 752.

fortes proportions d'albumoses dans certains extraits de viande commerciaux. Dans ce cas, nous avions songé à l'emploi du réactif chlorure de sodium et tanin à 12 °/₀, en milieu neutre, pour précipiter à la fois, la gélatine et les albumoses (ce réactif, après vérification, précipite en effet, non seulement les albumoses et les peptones, mais aussi la gélatine). Après un repos de vingt-quatre heures, filtrer et laver à l'alcool absolu; déterminer ensuite l'azote de ce précipité par la méthode de Kjeldahl, qui nous a servi pour le dosage de l'azote total. Ce même précipité, dans une deuxième expérience, après lavage à l'alcool absolu, serait dissous dans l'eau distillée chaude. Laisser refroidir et traiter ensuite en milieu neutre par le réactif de Mayer précipitant les albumoses. Après vingt-quatre heures de repos, il suffirait de doser dans ce précipité l'azote albumosique. Ce dernier résultat retranché du premier dosage, donnerait la quantité d'azote gélatinique, dont le poids, multiplié par le facteur 6,25 généralement admis, correspondrait à la gélatine. Le même facteur serait employé pour déterminer le poids des albumoses.

Nous avions dès lors échafaudé un procédé de séparation et de dosage de la gélatine, albumoses et peptone, en nous servant du réactif au tanin-chlorure de sodium, qui précipite à la fois la gélatine, albumoses et peptones, — du sulfate d'ammoniaque à saturation et à chaud précipitant la gélatine et les albumoses, et séparation de ces dernières dans ce dernier précipité par le réactif de Mayer, — ou mieux, séparation et dosage des albumoses et peptones dans le précipité obtenu avec le tanin, par le réactif de Mayer, et dosage de l'azote dans ce précipité pour déterminer la somme de l'azote des albumoses et des peptones, ou mieux encore, détermination de l'azote dans le liquide filtré, correspondant à l'azote de la gélatine.

Connaissant, d'une part, l'azote (gélatine + albumoses + peptones) $= a$, l'azote (albumoses + gélatine) $= b$, par le sulfate d'ammoniaque, on en déduit facilement l'azote des peptones. D'un autre côté, pouvant obtenir l'azote (albumoses + peptones) $= c$, par le réactif de Mayer, en retranchant c de a, nous aurons ainsi exactement l'azote correspondant à la gélatine.

Une difficulté est venue s'ajouter dans la mise en pratique de ce procédé de séparation et de dosage, difficulté due à la présence de la créatine, existant en assez forte proportion dans les extraits et précipitant par le réactif au tanin-chlorure de sodium. La

créatine comme la créatinine, ne précipitent pas par le réactif de Mayer.

Le procédé que nous avions imaginé, d'un emploi assez facile dans des milieux ne contenant pas de bases créatiniques, devient presque impraticable dans l'essai des extraits de viande du commerce.

Son application nécessiterait à la fois, le dosage de la créatinine totale dans une partie aliquote de l'échantillon et le dosage de la créatinine totale soit, par le procédé de Folin, soit par tout autre procédé, dans le filtrat obtenu après précipitation de la gélatine, des albumoses et des peptones par le chlorure de sodium et l'acide tanique.

A cela, il faut ajouter les difficultés de dosage de la créatinine en présence de tanin, dont il faut se débarrasser par la baryte.

Nous sommes donc obligés pour doser, s'il y a lieu, la gélatine et les albumoses dans les extraits de viande : 1° de déterminer en bloc la gélatine et les albumoses dans une partie de la solution d'extrait, par l'emploi du sulfate d'ammoniaque à saturation et à chaud; 2° de précipiter les albumoses en milieu neutre dans cette même partie en se servant du réactif de Mayer et calculer comme précédemment l'azote du précipité : par différence, on aura le poids d'azote correspondant à la gélatine. Ce dernier poids multiplié par 6,25 donnera la quantité de gélatine.

Exemple d'analyse d'un bouillon commercial[1].

(Echantillon n° 4, voir tableau p. 99.)

Prise d'essai : Nous avons pris une partie aliquote du produit (30 gr. très exactement) que nous avons dissous dans l'eau distillée. Compléter ensuite au volume de 1 litre dans un flacon jaugé. Cette solution à 3 °/₀ peut servir pour l'analyse qualitative et quantitative de cet échantillon.

1° ESSAI PRÉLIMINAIRE.

1° *Recherche de l'albumine par la chaleur* : négative.

2° *Action de l'acide acétique à froid* : ni trouble, ni précipité;

1. Ce bouillon ou plutôt cet extrait de bouillon solide, complètement soluble dans l'eau chaude, se présente dans le commerce sous forme de petits cubes, dont chacun sert à préparer 1/2 litre de bouillon de ménage.

Avec 100 gr. de cet extrait, on peut préparer 8 litres de ce bouillon.

3° *Réactions* : { 1° de Heller : négative; 2° citrique : négative; 3° du ferrocyanure acétique : négative;

4° *Recherche des peptones vraies* (KHUNE) après précipitation par le sulfate d'ammoniaque à saturation : négative;

5° *Recherche des albumoses secondaires* après précipitation par le sulfate de magnésie à saturation et en milieu neutre : négative;

6° *Réactions obtenues* avec le précipité formé par addition de sulfate de magnésie et dissous dans l'eau :

1° du biuret	+
2° xanthoprotéique	—
3° de Millon	—
4° de Heller	—
5° citrique	—
6° de Mayer	—
7° du ferrocyanure acétique	—

Donc, *gélatine* et *absence complète d'albumoses et de peptones vraies* dans le produit analysé;

7° *Réduction de la liqueur de Fehling* après défécation au réactif de PATEIN et DUFAU : négative.

2° ANALYSE QUANTITATIVE.

1° *Acidité* : Méthode MALY-DENIGÈS (p. 67). — 3 cm³ 2 ont été nécessaires pour saturer 10 cm³ de solution à 3 °/₀. 1 cm³ de soude décinormale correspond à 0 gr. 00326 d'acide phosphorique $0{,}00326 \times 3{,}2 = 0$ gr. 01043 d'acide phosphorique pour 10 cm³, soit 0 gr. 1043 pour 100 cm³ correspondant à 3 gr. d'extrait de bouillon, soit 3 gr. 476 d'acide phosphorique pour 100 gr. de cet extrait;

2° *Extrait sec.* — S'obtient par évaporation de 10 cm³ de solution à 3 °/₀ (p. 69).

Pourcentage d'extrait sec trouvé : 92 gr. 916;

3° *Matières minérales.* — Les cendres ou matières minérales sont obtenues par calcination de l'extrait sec précédent, en tenant compte de la volatilisation des chlorures.

Pourcentage de matières minérales trouvé : 69 gr. 62;

4° *Matières organiques.* — On les obtient par différence, soit pour le cas présent : $92{,}916 - 69{,}62 = 23$ gr. 296 °/₀;

5° *Eau.* — Le poids d'eau hygrométrique contenue dans 100 gr. d'extrait de bouillon est donc de : $100 - 92{,}916 = 7$ gr. 084;

6° *Chlorures* : Méthode Charpentier-Volhard (p. 74). — Les résultats sont exprimés en chlorure de sodium, en opérant sur 5 cm³ de solution à 3 °/₀.

Nombre de cm³ d'azotate d'argent $\frac{N}{10}$ transformés en chlorure 30 — 14,7 = 15 cm³ 3.

Le poids de sel marin contenu dans 10 cm³ de solution à 3 °/₀ est de 0,00585 × 15,3 × 2 = 0 gr. 17.901 soit 1 gr. 790 p. 100 cm³ de solution correspondant à 3 gr. d'extrait, soit 59 gr. 67 pour 100 gr. d'extrait.

7° *Azote total*. Méthode de Kjeldalh (page 79).

Mode opératoire : Denigès-Ronchèse (page 79). — La transformation en sulfate d'ammoniaque a été faite sur une prise d'essai de 20 cm³ de solution à 3 °/₀.

Il a fallu 0 cm³ 62 de soude décinormale après correction pour le titrage de l'ammoniaque.

Un litre de solution à 3 °/₀ contient donc : 1,4 × 0,62 = 0 gr. 868 d'azote total, correspondant à 30 gr. d'extrait de bouillon, soit 2 gr. 893 pour 100 gr. de cet extrait.

8° *Ammoniaque* : Méthode de Ronchèse (page 76). — Nous avons opéré sur 5 cm³ de solution à 3 °/₀.

Nombre de centimètres cubes de NaOH $\frac{N}{10}$ trouvés pour le titrage de l'ammoniaque contenue dans 5 cm³ de solution et après correction : 0 cm³ 62, soit 1 cm³ 24 pour 10 cm³.

Poids d'ammoniaque contenu dans 1 litre de solution (ou 30 gr. d'extrait de bouillon) : 0,17 × 1,24 = 0 gr. 2108, soit 0 gr. 70 °/₀ de cet extrait.

La quantité d'azote correspondant est obtenue en multipliant le poids d'ammoniaque 0 gr. 70 par le facteur 0,8235, soit pour le cas présent : 0,70 × 0,8235 = 0 gr. 576 d'azote ammoniacal pour 100 gr. d'extrait.

9° *Bases puriques* : Procédé Haycraft-Denigès (page 82). — Prise d'essai : 100 cm³ de solution.

Les résultats obtenus ont été calculés et exprimés en xanthine; 0 cm³ 8 de solution $\frac{N}{10}$ d'azotate d'argent ont été employés représentant la quantité combinée aux bases puriques.

0,8 × 0,19 = 0 gr. 152 de bases puriques (exprimées en xanthine) contenues dans 1 litre de solution correspondant à 30 gr.

d'extrait de bouillon, soit 0 gr. 50 de xanthine pour 100 gr. de cet extrait.

Le poids d'azote xanthique est obtenu en multipliant 0 gr. 50 par le facteur 0,3684, soit 0 gr. 184 d'azote pour 100 gr. d'extrait de bouillon.

10° *Bases créatiniques.* Méthode de Folin (page 85).

a) Créatinine : Son dosage colorimétrique a été fait sur 30 cm³ de solution à 3 °/₀.

Teneur en créatinine de 10 cm³ de cette solution :

$$\frac{8,1}{10,5} \times 10 = \frac{7,71}{3} = 2 \text{ milligr. } 57,$$

soit 0 gr. 0257 pour 100 cm³, correspondant à 3 gr. d'extrait de bouillon, soit 0 gr. 856 de créatinine pour 100 gr. de cet extrait.

Le poids d'azote de la créatinine s'obtient en multipliant 0 gr. 856 par le facteur 0,3716, soit 0 gr. 318 °/₀ d'azote correspondant à 0 gr. 856 de créatinine.

b) Créatine : Après hydrolyse au B.-M., la quantité de créatinine trouvée était exactement la même que précédemment, d'ou absence de créatine dans cet échantillon de bouillon commercial.

Si le produit à analyser contient de la créatine, il suffit de multiplier le poids *p* de cette dernière par le facteur 0,3206 pour avoir la quantité d'azote correspondant.

11° *Matières grasses.* Méthode d'Adam (page 88). — Nous avons fait ce dosage sur 10 cm³ de solution 3 °/₀.

Pourcentage de matières grasses trouvé : 5 g. 81 °/₀.

12° *Glucose* (page 89). — La réduction à la liqueur de Felhing après défécation au réactif de Patein et Dufau a été négative, d'où absence de glucose ou de toute autre matière réductrice.

13° *Albumine* = 0

14° *Albumoses* = 0

15° *Peptones vraies* = 0

Si nous faisons la somme de l'azote dosé comme ammoniaque, xanthine et créatinine, nous obtenons ainsi le total de 1,078 °/₀, ce qui nous permet d'obtenir l'azote restant attribuable en majeure partie à la gélatine, c'est-à-dire

$$2,893 - 1,078 = 1,815 \text{ °/}_0.$$

En supposant que cette dernière quantité d'azote soit due uniquement à la gélatine contenue dans cet extrait de bouillon et en employant le coefficient 6,25 adopté pour le dosage des matières albuminoïdes, cet azote dosé représenterait un poids de gélatine égal à :

$$1,815 \times 6,25 = 11,34\ \%.$$

Si nous nous reportons aux indications du fabricant pour la préparation du bouillon de ménage avec cet extrait, la composition chimique par litre de bouillon ainsi préparé serait la suivante :

	RÉSULTATS PAR LITRE
1° Acidité (en acide phosphorique)	0 gr. 434
2° Extrait sec	11 gr. 614
3° Matières minérales	8 gr. 70
4° Matières organiques	2 gr. 912
5° Chlorure de sodium	7 gr. 458
6° Azote total	0 gr. 361
7° Ammoniaque	0 gr. 087
8° Bases puriques (en xanthine)	0 gr. 062
9° Créatinine	0 gr. 107
10° Créatine	»
11° Matières grasses	0 gr. 727
12° Glucose	»
13° Albumine	»
14° Albumoses	»
15° Peptones	»
16° Azote ammoniacal	0 gr. 072
16° Azote xanthique	0 gr. 023
16° Azote de la créatine	»
16° Azote de la créatinine	0 gr. 039
17° Azote restant attribuable en majeure partie à la gélatine	0 gr. 227

Composition chimique des Bouillons alimentaires et des Extraits de Viande.

	1° BOUILLONS ALIMENTAIRES (Résultats par litre)													2° EXTRAITS DE VIANDE DU COMMERCE (résultats pour 100)			
	1° DU COMMERCE				2° DES HÔPITAUX							3° PRÉPARÉS SPÉCIALEMENT					
	1° LIQUIDES		2° SEMI-LIQUIDE	3° SOLIDE													
	1	2	3	4	Charité	Cochin	Laënnec	Hôtel-Dieu	Pitié	Necker	Enfants-Malades	5 (a)	6 (b)	7	8	9	10
Réactions: xanthoprotéique	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	•	—	•	—
Réactions: de Millon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	• (1)	•	•	•
Réactions: du biuret	+	•	+	+	•	+	+	•	+	+	+	•	•	+	+	+	+
Réactions: du ferrocyanure de potassium acétique	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	louche	lég. louche	—	lég. louche	—
Densité à + 15°	1013,5	1,014	p. 100	p. 100	1,009	1013,0	1010,0	1010,0	1009,5	1012,0	1013,0	1007,5	1008,0				
Acidité (acide phosphorique)	1,077	1,044	2,887	3,476	0,85	1,23	0,82	0,70	0,71	0,991	0,83	1,65	1,52	3,80	.....	.....	.....
Extrait sec	22,15	22,75	41,250	92,916	16,175	19,15	17,25	15,85	12,95	21,75	21,575	15,70	15,025	80,95	80,625	83,10	81,875
Chlorure de sodium	10,822	11,76	13,572	59,67	7,78	12,57	8,06	10,12	9,18	9,27	12,16	»	»	3,393	8,48	5,265	4,312
Matières minérales	12,838	13,96	19,822	69,62	9,155	13,545	9,31	10,92	10,53	11,295	13,86	3,875	3,80	21,393	23,792	24,177	20,812
Matières organiques	9,312	8,79	21,428	23,296	7,02	5,605	7,94	4,93	2,42	10,455	7,715	11,825	11,225	59,557	56,833	58,923	61,063
Eau	991,35	991,25	58,75	7,084	993,825	993,85	992,75	994,15	996,05	990,75	991,925	992,30	992,475	19,05	19,375	16,09	18,125
Azote total	1,012	0,723	3,472	2,893	0,465	0,434	0,75	0,36	0,325	1,012	0,759	1,47	1,37	9,25	7,77	8,68	9,025
Matières grasses	2,30	2,45	0,35	5,81	1,05	0,80	0,58	0,45	0,17	traces	0,17	traces	traces	0,55	1,375	0,875	1,275
Glucose	»	présence	»	»	présence	présence	présence	présence	traces	0,956	présence	présence	présence	»	traces	»	»
Bases puriques (xanthine)	0,147	0,547	0,378	0,50	0,252	0,105	0,126	0,105	0,063	0,147	0,33	0,525	0,42	1,386	1,47	0,68	1,31
Créatine	»	»	0,25	»	»	»	»	»	»	»	»	0,235	0,394	0,27	0,643	»	0,443
Créatinine	0,285	0,081	0,556	0,856	0,169	0,06	0,22	0,071	0,077	0,28	0,225	0,181	0,097	1,35	0,964	2,025	1,467
Ammoniaque	0,137	0,175	0,456	0,70	0,093	0,07	0,113	0,071	0,052	0,158	0,149	0,35	0,298	0,527	0,878	1,31	1,054
Albumine	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	0,30	»	»	»	»
Azote: xanthique	0,054	0,201	0,139	0,184	0,093	0,038	0,046	0,038	0,023	0,054	0,121	0,194	0,155	0,510	0,541	0,250	0,483
Azote: de la créatine	»	»	0,081	»	»	»	»	»	»	»	»	0,075	0,126	0,086	0,206	»	0,142
Azote: de la créatinine	0,106	0,030	0,206	0,318	0,063	0,022	0,081	0,026	0,028	0,104	0,083	0,067	0,036	0,502	0,358	0,752	0,545
Azote: ammoniacal	0,113	0,144	0.375	0,576	0,076	0,057	0,093	0,058	0,042	0,130	0,123	0,289	0,246	0,434	0,723	1,078	0,868
Azote: de l'albumine	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	0,047	»	»	»	»
Azote: de la gélatine etc.	0,739	0,348	2,671	1,815	0,233	0,317	0,53	0,238	0,232	0,724	0,432	0,845	0,762	7,718	5,942	6,60	6,987

(a) Ce bouillon a été préparé de la façon suivante : 500 gr. de viande maigre, finement hachée, sont mis à macérer dans un litre d'eau distillée pendant six heures, porter le tout à l'ébullition pendant un quart d'heure, passer avec expression et filtrer après refroidissement complet.
(b) Ce bouillon a été préparé, comme le bouillon (a), avec la même qualité et la même quantité de viande, mais au bain-mario.
(1) • faiblement positive.

QUATRIÈME PARTIE

CONSIDÉRATIONS SUR LA VALEUR NUTRITIVE DES BOUILLONS ET EXTRAITS DE VIANDE. LEUR ROLE DANS LES PHÉNOMÈNES DE SÉCRÉTION GASTRIQUE

L'opinion générale des physiologistes est, que la valeur alimentaire des bouillons et extraits de viande est limitée. Cette opinion paraît conforme aux résultats de nos analyses, d'après lesquelles ces différentes préparations seraient dépourvues généralement des principes nutritifs contenus dans la viande elle-même et formées d'une assez forte proportion de gélatine, comme l'avait déjà remarqué le chimiste Jung[1].

I. — *Valeur nutritive de la gélatine.*

La gélatine ne serait pas nutritive ou posséderait une action protéique faible, d'après les expériences récentes de Kauffman[2] et de Mancini[3]. Depuis les travaux de la Commission, dite de la gélatine, en France, la valeur nutritive de la gélatine a été très discutée par Voit[4] et Pollitzer[5]. Ceux-ci admettent que la gélatine peut remplacer une partie de l'albumine.

D'après M. A. Gautier[6], la gélatine est assimilable lorsqu'elle est mélangée aux autres aliments.

1. Jung. *Loc. cit.*
2. *Pflüger's Archiv*, 1905, **109** : 440.
3. *Archiv d. Farmacol. sperim.*, 1906, **5** : 309, 337.
4. Voit. *Zts Biol.* 1869, **5** : 329; 1872, **8** : 297.
5. *Archiv gesam. Physiol.*, 1885, **37** : 301.
6. A. Gautier. *Bull. Acad. Méd.* [3], 1900, **43** : 259.

Selon les travaux de KRUMACHER[1], MUNK[2], KAUFFMAN[3], RONA et MULLER[4], absorbée seule ou avec d'autres aliments, elle aurait un faible pouvoir nutritif. Pour PAWLOW, la gélatine serait un excitant chimique immédiat de la sécrétion gastrique.

2° *Valeur nutritive des bouillons et extraits de viande.*

Quant à la valeur nutritive des bouillons et surtout des extraits de viande, elle a été également très discutée. Les travaux de CL. BERNARD et GRANDAU, sur la toxicité des sels de potasse, avaient beaucoup diminué l'emploi des extraits de viande au point de vue thérapeutique et même alimentaire.

SCHIFF, DUJARDIN-BAUMETZ et A. ROBIN[5] ont redonné de l'actualité à ces préparations.

M. A. GAUTIER dans son travail : *Sur l'influence des préparations de viande sur la croissance et la santé des animaux*, en remplaçant une partie de la nourriture normale de chacun des lots de cobayes soumis à ses expériences par une quantité égale d'azote sous forme d'extrait de viande, remarqua que, dans certaines limites, ce régime leur fut favorable. L'auteur considère les bouillons et extraits de viande comme des aliments proprement dits, mais aussi comme des toniques et des stomachiques. Il conclut en disant qu'il pourrait y avoir avantage à remplacer une partie des aliments naturels par de l'extrait de viande, dans le cas de convalescence surtout. MM. RICHET et HÉRICOURT[6] ont également contribué à la même époque à donner de la popularité aux préparations à base de viande, mais principalement aux extraits.

Certains auteurs, moins optimistes, ont publié de nombreux et intéressants travaux sur la valeur nutritive des extraits de viande, valeur que la plupart considèrent comme nulle, ces préparations ayant toutes le défaut commun de contenir un excès de sels minéraux et une quantité nulle ou tout à fait insuffisante de matières protéiques. Nous allons résumer très brièvement les opinions de chimistes et de physiologistes étrangers à ce

1. *Zts. Biolog.*, 1901, **42**:342.
2. *Arch. gesam. Physiol.*, 1894, **58**:309.
3. *Arch. gesam. Physiol.*, 1905, **109**:440.
4. *Zts. physiologische Chem.*, 1907, **50**:263.
5. J. ROCHARD. *Encyclopédie d'Hygiène*, 1890, **2**:279.
6. Communication au XIII[e] Congrès intern. de Méd., 4 août 1900.

sujet, ainsi que les principaux travaux concernant le rôle des préparations de viande (bouillons, extraits) dans les phénomènes de sécrétion gastrique.

Kemmerich[1], en 1869, a vu survenir des accidents graves en voulant remplacer une partie de la ration ordinaire des animaux par de l'extrait de viande ; il devait plus tard[2] leur attribuer une certaine valeur, ses expériences ayant porté sur son extrait. Bunge[3] fit mourir un lapin par l'absorption de 10 à 15 gr. d'extrait de viande. P. Muller[4] a toujours vu survenir des accidents par l'emploi de doses un peu fortes d'extrait de viande. D'après Voit[5], la valeur de ce dernier reposerait essentiellement sur son arome. Rubner[6] lui attribue cependant une faible valeur alimentaire et K. B. Lehmann[7], une influence sur l'accélération du pouls.

En 1891, Chittenden[8], discutant la valeur nutritive de l'extrait de viande, considérait cette préparation, non comme un aliment de premier choix, mais bien comme un stimulant. A. Brestowski[9] nie ses propriétés alimentaires, contrairement à H. Bremer[10], qui lui attribue une certaine valeur nutritive « par sa teneur en éléments albumineux solubles qui, à suite des recherches scientifiques, sont à considérer comme des combinaisons albuminoïdes spéciales aux bouillons de viande ; par ses sels naturels nutritifs et ses matières extractives » !

D'après le Dr Carl Voit[11], les extraits de viande n'auraient de valeur que comme condiment.

Selon les expériences de E. Pfluger[12], l'absorption d'une certaine quantité d'extrait de viande aurait pour effet d'augmenter l'urée dans les urines. J. Frenzel et Toryama[13] sont parvenus aux mêmes résultats que Pfluger.

1. *Archiv f. Phys.*, 1869.
2. *Zts. physiol. Chem.*, 1893, **18**:409.
3. *Archiv f. Physiol.*, 1871.
4. P. Muller. Extraits de viande au point de vue physiologique. *Thèse Paris*, 1871, 77.
5. *Stoffwechsel*, 1882, 449.
6. *Zts. f. Biol.*, 1884, **20**:265.
7. *Archiv f. Hygiene*, 1885, **3**: 249.
8. *Med. News*, 1891, **58**:716.
9. *Medic. Chir. Centralbl.*, 1893, **28**: 653.
10. H. Bremer. *Chem. Ztg*, 1900, **24**:838.
11. *Munchener medic. Wochenschr.*, 1897, **44**:221.
12. *Pflüger's Archiv die gesam. Physiol.*. 1898, **69**:537.
13. *Archiv f. Anatom. u. Physiol., Physiol. Abtheil.*, 1901, **284** : 499.

D'après les expériences assez récentes de E. Burgi[1], H. Otto[2], J. G. Slade[3], les extraits de viande ne seraient pas de véritables aliments.

Que faut-il conclure de tous ces faits? C'est que les préparations de viande (bouillons, extraits fluides ou solides) ne seraient pas des aliments nutritifs proprement dits, si l'on se rapporte à l'opinion générale des auteurs, opinion qui semble d'ailleurs confirmée par l'analyse chimique de ces différentes préparations. Cette analyse nous a montré leur faible teneur en azote, lequel existe généralement sous une forme peu nutritive.

3° *Du rôle des bouillons et des extraits de viande dans les phénomènes de sécrétion gastrique.*

Si l'action des bouillons et des extraits de viande est nulle ou à peu près nulle au point de vue nutritif, leur action au contraire sur les phénomènes de la sécrétion gastrique mérite quelque importance. Il suffit, pour s'en convaincre, de se rapporter aux expériences qui ont été faites à ce sujet.

Les plus précises sont, sans contredit, celles de J. P. Pawlow et Dr Lobassof[4], qui ont introduit au moyen d'une fistule stomacale pratiquée à un chien 150 cm³ d'eau contenant en dissolution 10 gr. d'extrait de viande Liebig. Treize minutes après l'introduction du liquide apparut une première goutte de suc. Pendant la première heure, la quantité de suc gastrique sécrété a été de 5 cm³ dont la puissance digestive ou action hydrolysante mesurée par la méthode de Mette était de 4 mm. 25. Pendant la deuxième heure, les auteurs ont recueilli 2 cm³ 6 de suc gastrique d'une puissance digestive de 4 mm.

Un grand nombre de physiologistes se sont demandé quel pouvait bien être l'agent producteur de cette abondance de sécrétion. D'après les expériences de Pawlow, cet agent ne serait ni l'eau, qu'il considère comme un excitant chimique de faible intensité, ni le chlorure de sodium et les sels qui sont contenus dans les bouillons et extraits de viande et qui n'exerceraient aucune action sur l'appareil de sécrétion gastrique.

1. *Archiv Hyg.*, 1904, **51**:1.
2. *Pharm. Ztg.*, 1905, **50**:350.
3. *J. physiol.*, 1907 [3], **35**:163.
4. J. P. Pawlow. *Le travail des glandes digestives* (Traduction de V. Pachon et J. Sabrazès), Paris, Masson, 1901 : 150-160.

Pour PAWLOW et, plus récemment, J. G. SLADE, les substances extractives, créatine, créatinine auraient également une action complètement nulle.

Des auteurs attribuent le pouvoir stimulant des bouillons et extraits de viande, les uns à la carnine, dont la composition chimique se rapprocherait de celle de la théobromine ; les autres, et en particulier J. G. SLADE, à certaines bases de viande encore mal définies, telles que la novaïne, et isolées par KUTSCHER dans l'extrait de LIEBIG. LOBASSOF, collaborateur de PAWLOW, dit que cette substance active des préparations de viande (bouillons, extraits), agissant sur la sécrétion stomacale, resterait dans le résidu du traitement de l'extrait de LIEBIG par l'alcool absolu. Pour PAWLOW, la nature des excitants chimiques des extraits de viande serait encore inconnue.

Les expériences de ce dernier physiologiste l'ayant conduit à considérer la gélatine (laquelle, nous l'avons vu précédemment, existe en assez forte proportion dans les bouillons et extraits de viande) comme un excitant chimique immédiat de la sécrétion gastrique, il se pourrait qu'une partie de l'action exercée sur l'estomac par l'absorption d'une certaine quantité de ces préparations soit due précisément à la gélatine qu'elles contiennent. Pour le moment, nous devons nous en tenir à l'opinion de PAWLOW, en attendant que de nouvelles expériences soient faites à ce sujet.

CONCLUSIONS

Nous avons vu, dans l'exposé rapide de la première partie de ce travail, que l'étude analytique des bouillons, extraits de viande ou autres préparations similaires n'est pas nouvelle, qu'elle a souvent donné lieu à des controverses. Nous avons vu également qu'il a été publié de nombreuses analyses de ces préparations, surtout depuis les travaux de Liebig; que toutes sont entachées d'erreur par l'emploi de méthodes qui ont souvent conduit leurs auteurs à des résultats contradictoires.

Des faits que nous venons d'exposer dans le cours de ce travail, nous pensons pouvoir tirer les conclusions suivantes :

I. — C'est que les bouillons de ménage, loin de contenir par litre les 6 à 9 gr. de matières albuminoïdes signalés par certains auteurs, en sont au contraire dépourvus.

II. — Qu'ils renferment tous une assez forte proportion de gélatine formée pendant la coction de la viande au dépend des tendons et caractérisée : 1° par la réaction du biuret; 2° par l'absence de réaction de Millon; 3° par sa non-précipitation par le ferrocyanure de potassium acétique et par le réactif de Mayer en milieu neutre, etc., en suivant la technique spéciale exposée dans la deuxième partie de cette étude.

III. — Quant aux extraits de viande, ces derniers contiennent également pour les mêmes raisons une grande quantité de gélatine non précipitable par le réactif de Mayer (ce réactif, nous

l'avons vu (page 43), précipite totalement en milieu neutre les albumoses et les peptones) avec des traces d'albumoses trouvées dans quelques échantillons seulement et en particulier dans l'extrait Liebig. Cet extrait de viande, ainsi que tous ceux compris dans cette étude, sont, comme nous l'avons vu, *totalement dépourvus de peptones.* Les résultats ainsi obtenus s'écartent donc de la plupart de ceux publiés antérieurement et plus particulièrement des résultats mentionnés par certains auteurs dans l'analyse de l'extrait Liebig, qui contiendrait plus du tiers de son poids d'albumoïdes assimilables, dont 15 à 24 °/₀ de peptone!!

IV. — Les bouillons, et principalement les bouillons de ménage préparés avec de la viande maigre, contiennent généralement, en dehors du glucose, un autre corps réducteur, l'acide glycuronique, caractérisé par son osazone fondant vers 130° au bloc de Maquenne (méthode de fusion instantanée de Bertrand) et qui n'avait pas encore été jusqu'ici caractérisé nettement.

Nous avons vu que cet acide glycuronique existe non seulement dans les bouillons de ménage et dans les bouillons préparés par macération et portés ensuite à l'ébullition ou au B.-M., mais aussi dans la chair musculaire de bœuf et, très probablement, des autres mammifères.

C'est à la présence de cet acide glycuronique qu'est due l'opinion de certains auteurs qui admettent l'existence de maltose ou encore d'isomaltose dans les muscles où ils ont été trouvés antérieurement. Nous avons montré dans un chapitre spécial que cette prétendue dénomination de maltose ou d'isomaltose donnée au sucre des muscles provient d'un défaut de purification de l'osazone brute obtenue au B.-M. et qui n'est qu'un mélange de glucosazone et de glycurosazone.

V. — La méthode simple et rapide que nous avons adoptée dans la troisième partie de cette étude pour le dosage des principaux éléments constituants des bouillons et extraits de viande, sans être d'une rigueur extrême, est néanmoins suffisante pour l'appréciation de leur valeur culinaire ou thérapeutique qui réside essentiellement, d'après les expériences de Pawlow, dans leur rôle d'excitants chimiques de la sécrétion gastrique.

Nous pensons qu'un accueil favorable sera fait à cette méthode qui permet de vérifier l'état de fraîcheur et de conservation aussi

bien que la composition chimique de produits culinaires aussi importants que les bouillons, extraits de viande ou autres préparations similaires.

Vu et bon à imprimer :
Le Président de la thèse,
L. GRIMBERT.

Vu :
Le Directeur de l'École,
L. GUIGNARD.

Vu et permis d'imprimer :
Le vice-recteur de l'Académie de Paris,
L. LIARD.

TABLE DES MATIÈRES

TROISIÈME PARTIE

QUATRIÈME PARTIE



